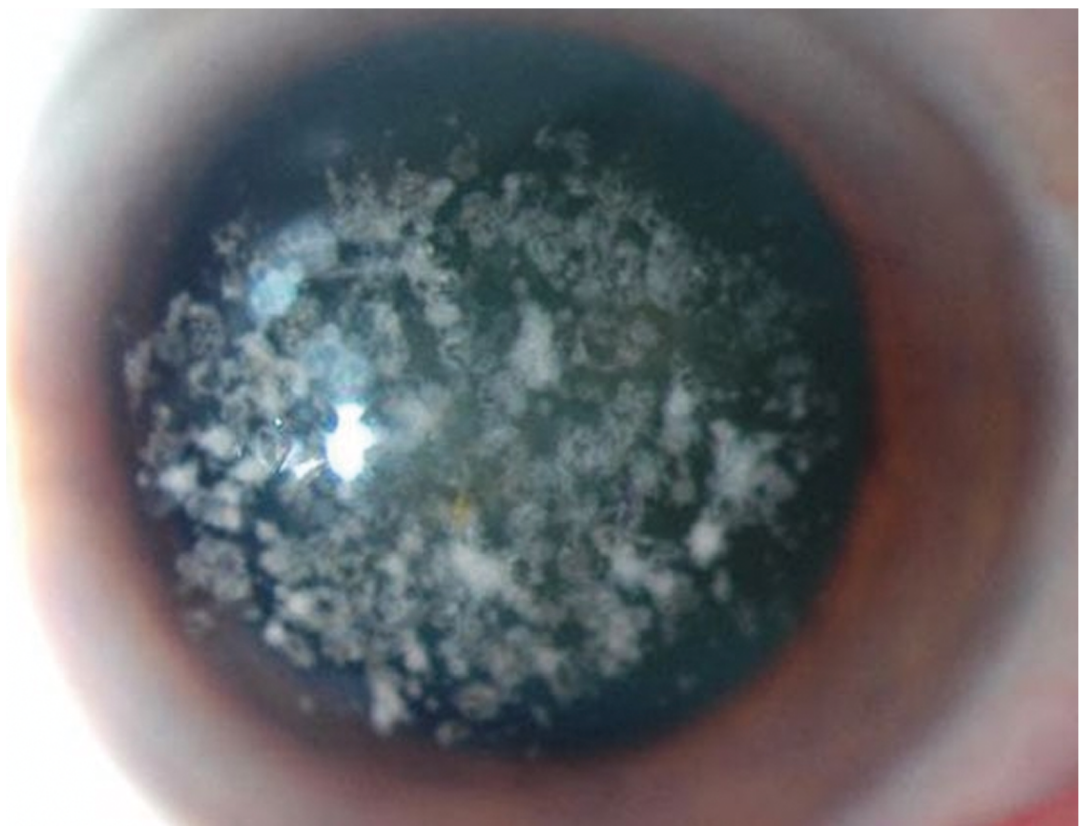


ENFERMEDADES RARAS OCULARES: UN MUNDO POR VER



COORDINA: DRA. CARMEN MARÍA GÓMEZ NAVARRO.



ENFERMEDADES RARAS OCULARES: UN MUNDO POR VER

Coordina: Dra. Carmen María Gómez Navarro.



ISBN: 978-84-128199-0-8

D.L. MU--2023

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

Adaptar — remezclar, transformar y construir a partir del material

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

CompartirIgual — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original.

Los textos aquí presentados se reproducen tal como fueron enviados por sus respectivos autores.

Impreso en España / Printed in Spain



Índice

ANGIOGRAFÍA CON VERDE DE INDOCIANINA Y TERAPIA FOTODINÁMICA DE BAJA FLUENCIA EN SÍNDROME PAQUICOROIDEO.	15
USO DE ELECTROPORACIÓN EN TERAPIA OPTOGENÉTICA PARA RESTAURACIÓN VISUAL DE RATONES RD10	25
DIAGNÓSTICO DE LINFOMA CEREBRAL PRIMARIO A PARTIR DE	43
ESTUDIO RETINIANO CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA	43
DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE PACIENTES CON DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL EXOMA CLÍNICO.	53
DIFERENCIAS ANATÓMICAS EN LA RETINA EN TRASTORNO DE DÉFICIT DE ATENCIÓN E HIPERACTIVIDAD	65
HEMIANOPSIA COMO SÍNTOMA INICIAL DE VALVULOPATÍA MITRAL INFECCIOSA	89
UTILIDAD DE LA AUTOFLUORESCENCIA EN EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE UVEÍTIS POSTERIOR.	99
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON NUTRACÉUTICOS DURANTE 2 AÑOS SOBRE EL ESTADO REDOX Y LA FUNCIÓN VISUAL EN PACIENTES CON RETINOSIS PIGMENTARIA	109
EL PAPEL DE LAS ASOCIACIONES DE PACIENTES	133

Angiografía con verde de indocianina y terapia fotodinámica de baja fluencia en síndrome paquicoroideo.

Autores: María Victoria Navarro Abellán, Manuel Almarcho Menargues, Carmen Miquel López, José Javier García Medina.

Objetivo: Demostrar la ventaja diagnóstica de pruebas de imagen como la angiografía con verde de indocianina (AVI) en pacientes con síndrome paquicoroideo. Evaluar la efectividad y seguridad de la terapia fotodinámica (TFD) de baja fluencia en pacientes con fluido subretiniano (FSR) crónico secundario a síndrome paquicoroideo que no responde a terapia intravítrea con Anti-VEGF.

Introducción: El síndrome paquicoroideo es un concepto relativamente nuevo que describe un fenotipo amplio de patologías caracterizadas por atenuación de la coriocalilar, dilatación de venas coroideas asociadas a alteración del EPR y NVC. Viene dado una coroides alterada, donde los vasos aumentados de tamaño se denominan paquivasos. El espectro de síndrome paquicoroideo tiene distintas manifestaciones clínicas como la CS, la epiteliofobia pigmentaria paquicoroidea, la neovascularización paquicoroidea y el pólipo coroideo o neovascularización aneurismática tipo 1. El espectro de patología paquicoroidea engloba un grupo de enfermedades que comparten un aumento de grosor coroideo y cambios en el EPR, acompañado o no de alteraciones retinianas. Se piensa que la lesión coroidea precede a la alteración del EPR supradistante.

En resumen, el síndrome paquicoroideo es caracterizado por una atenuación de la coriocalilar con venas coroideas en la capa de Haller dilatadas, produce además disfunción progresiva del epitelio pigmentario de la retina (EPR) con neovascularización,

desprendimiento neurosensorial (DNS) y desprendimientos del epitelio pigmentario de la retina (DEP).

Dentro del espectro de la enfermedad paquicoroidea, se han observado vasos coroideos dilatados y permeables usando angiografía con verde de indocianina (AVI) que muestra puntos de fuga por hiperpermeabilidad de los vasos coroideos en áreas defectuosas del EPR. La AVI en síndromes paquicoroideos se considera la prueba de imagen multimodal gold standart de esta patología, ya que visualiza los puntos de fuga por hiperpermeabilidad de los vasos coroideos dilatados. La coroides es la estructura vascular que nutre el EPR y la retina externa, desempeña un papel fundamental en la homeostasis del ojo, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. En los últimos 20 años hemos pasado de “adivinar” lo que ocurría más allá del EPR a visualizar realmente los cambios estructurales y funcionales de la coroides in vivo de forma no invasiva. Hay múltiples técnicas disponibles en el ámbito clínico y de investigación, incluyendo la AVI, las angiografías (AGF) con células marcadas, la tomografía de coherencia óptica (OCT), la imagen de profundidad mejorada, la OCT de barrido y la angiografía OCT. Cada vez hay más pruebas que sugieren que la coroides está mucho más implicada de lo que solíamos pensar en muchas condiciones patológicas, desde la uveítis hasta los tumores intraoculares, desde las enfermedades vasculares hasta la degeneración macular asociada a la edad. Por lo tanto, todos los clínicos deberían saber cuál es la investigación de imagen más adecuada para explorar la coroides en la enfermedad que están tratando y cómo interpretar los resultados. En los síndromes paquicoroideos se identifican cambios en la coroides que implican un aumento de la presión hidrostática y condicionan la aparición de zonas con DEP y fracaso en la función de bomba del EPR con acumulación de líquido subretiniano y el típico DNS de la coroidopatía central serosa (CSC). La OCT mejorada para imagen profunda (EDI-OCT) ha venido a corroborar cómo en los pacientes con síndrome paquicoroideos, se encuentra un aumento de grosor coroideo que se correlaciona con las áreas de hiperpermeabilidad que fugan en la AVI.

La TFD fue introducida hace 100 años, ha evolucionado hasta convertirse en una opción de tratamiento segura y eficaz para los

oftalmólogos. Se basa en la interacción entre el fotosensibilizador, la longitud de onda apropiada y el oxígeno, para causar la muerte celular. Actúa a múltiples niveles, activa la Verteporfina (Visudyne; Novartis Pharma AG) a nivel vascular produciéndose la destrucción selectiva de células endoteliales y una activación plaquetaria con la formación respectiva de un trombo que conlleva la oclusión vascular de la neovascularización coroidea, desapareciendo el punto de fuga y absorbiéndose el FSR crónico. La TFD de baja fluencia guiada por AVI presenta grandes ventajas como localizar el área de hiperpermeabilidad y calcular exactamente el tamaño del punto de fuga en pacientes con síndrome paquicoroideo. TFD de baja fluencia usa dosis de 6mg/m² de Verteporfina en infusión intravenosa durante 10 min, cuando aplicamos la energía láser administrada a los 15 min de la infusión, reducimos los valores de la TFD normal a la mitad, es decir, utilizamos los valores de 698 nm a 25 J/cm² con una intensidad de 300mW/cm² durante 83 segundos, en lugar de aplicar 50 J/cm² y 600mW/cm². La TFD anteriormente se usaba en degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en la forma exudativa para tratar las membranas neovasculares o en NVC miópica. Hoy en día tratar estas patologías con TFD se encuentra en desuso dado la efectividad de la terapia Anti-VEGF. Sin embargo la TFD a dosis plenas puede utilizarse actualmente para tratar angiomas coroideos o en bajas dosis en el espectro de enfermedades paquicoroideas con FSR crónico que no responden a terapia Anti-VEGF o de manera complementaria a la terapia antiangiogénica.

Los antagonistas del factor de crecimiento endotelial vascular (Anti-VEGF) son ampliamente utilizados en la oftalmología ya que administrados en inyección intravítreas tratan múltiples patologías como DMAE, edema macular diabético (EDM), retinopatía diabética proliferativa (RDP) y síndromes paquicoroideos. En la patología paquicoroidea crónica con FSR de más de 6 meses de duración con descenso de la MAVC, se consideran el tratamiento de primera línea por su efectividad y seguridad, sin embargo en casos de no responder a terapia intravítrea antiangiogénica (Ranizumab, Aflibercept...) la TFD de baja fluencia puede considerarse una alternativa adecuada, de manera aislada o en combinación.

Métodos: Unidad de Retina, Servicio Oftalmología, Hospital Universitario Morales Meseguer, Murcia. Se ejecutó un análisis retrospectivo e intervencionista de casos consecutivos, no aleatorizados sin grupo control de pacientes con síndromes paquicoroideos no respondedores a terapia antiangiogénica. Se realizó un estudio observacional mediante imagen multimodal usando AVI en 4 pacientes con edades comprendidas entre los 55 y 74 años que presentaban síndromes paquicoroideos diagnosticados previamente mediante imagen multimodal, tres de ellos con afectación de polo posterior y uno con afectación peripapilar. Anteriormente habían estado al menos dos años de tratamiento con Anti-VEGF, entre el año 2017 y 2020, las AV no aumentaron y el FSR crónico permanecía, siendo no respondedores a terapia intravítrea antiangiogénica. El estudio con AVI se realizó solamente una vez previa a la TFD. El tratamiento aplicado fue la TFD de baja fluencia en 2021 y se realizó seguimiento hasta 2022. La TFD de baja fluencia consiste en usar una dosis de 6mg/m² de Verteporfina en infusión intravenosa durante 10 min y disminuir la energía láser administrada a los 15 min de la infusión: 698nm a 25J/cm² con una intensidad de 300mW/cm² durante 83 segundos. La seguridad sistémica y ocular de la Verteporfina, demostrada en los estudios TAP y VIP junto con su actividad potencialmente sinérgica con los agentes antiangiogénicos, actual tratamiento para el tratamiento combinado en pacientes seleccionados.

Resultados:

Presentamos 4 casos clínicos observacionales retrospectivos de pacientes diagnosticados en 2019-2020 de síndromes paquicoroideos mediante estudio de imagen multimodal con OCT. En tratamiento durante 2 años con múltiples inyecciones intravítreas de Anti-VEGF distintos, persiste FSR crónico, DEP, DNS y AV bajas respecto a años anteriores.

El primer caso clínico, mujer de 67 años, tras haber estado con Aflibercept bimensual desde 2019, presenta una mejor agudeza visual corregida (MAVC) de 0.8. en OD con una afectación de polo posterior, tras aplicar la TFD de baja fluencia guiada por AVI en

2021, presenta al mes una MAVC de 1 con absorción total del FSR y la desaparición del desprendimiento neurosensorial (DNS). La visión de la unidad se mantiene los 10 meses posteriores, en la OCT se observan puntos hiperreflectivo y alteraciones del EPR.

El segundo caso clínico, mujer de 62 años, es un síndrome paquicoroideo con afectación submacular que estaba en tratamiento Anti-VEGF desde 2017, con múltiples terapias (Ranizumab, Aflibercept y Bevacizumab) presentaba una MAVC en OD de 0.2, tras la aplicación de TFD de baja fluencia guiada por AVI en 2021, al mes duplicó su visión a una MAVC de 0.4., desapareció el DNS y FSR submacular, persistiendo los paquivasos y alteración de la capa externa de la retina.

El tercer caso clínico, un varón de 72 años de edad con síndrome paquicoroideo con afectación de polo posterior, estaba desde 2019 con Ranizumab con MAVC en OI de 0.6, DNS y FSR crónico, tras la aplicación de TFD de baja fluencia guiada por AVI en 2021 consigue ver la unidad, es decir, MAVC de 1. Con una duración de 10 meses, sigue sin FSR crónico y sin signos de actividad.

El cuarto caso clínico, es una mujer hipermétrope de 55 años que empezó en 2020 con Anti-VEGF y que presentaba una afectación del haz papilo macular del OD, el fluido se encontraba peripapilar con respeto del área foveolar, era llamativo que en la había paquivasos más dilatados en la capa de Haller nasal que en la temporal, decrecía el grosor corioideo a medida que nos alejábamos de la papila. En la AVI se apreciaban vasos corioideos hiperefringentes en el área nasal, además de FSR crónico peripapilar con una MAVC DE 0.8 y tras la aplicación de TFD de baja fluencia guiada por AVI en 2021 consigue una MAVC de 1, la unidad.

En resumen ante la persistencia de FSR crónico y AV bajas en los 4 pacientes con síndrome paquicoroideo, tras tratamiento ineficaz durante años con numerosas inyecciones de Ranizumab, Aflibercept, incluso Bevacizumab, la aplicación de TFD de baja fluencia con Verteporfina guiada por AVI, consigue mejorar la MAVC gracias a la reabsorción total del FSR crónico en todos los casos presentados.

Discusión:

El avance de las técnicas de imagen multimodal han alcanzado un mejor entendimiento de la patología coroidea y sus cambios respecto al espectro paquicoroideo. El conocimiento clínico y el manejo en el tratamiento han aumentado en los últimos años. Sin embargo, no está de todo claro por qué unas patologías del fenotipo de síndrome coroideo no producen alteraciones del EPR, ni del FSR, y otras sin embargo, presentan un daño progresivo con neovascularización y atrofia final. Estudios sugieren que los ojos con coroides más gruesas e hiperpermeables tienen más probabilidades de responder mal a la monoterapia anti-VEGF intravítrea. La TFD posee un papel importante en el tratamiento combinado de síndromes paquicoroideos que no responden a Anti-VEGF. Se ha informado de la eficacia de muchas estrategias de tratamiento, como TFD con Verteporfina, antagonistas orales de los mineralocorticoides y láser de micropulso. Sin embargo, las pruebas disponibles sugieren que la TFD de baja fluencia debería ser el tratamiento de elección en FSR crónico en síndromes paquicoroideos no respondedores a terapia antiangiogénica.

Destacar, a propósito del cuarto caso clínico, el síndrome paquicoroideo peripapilar. Es una condición relativamente nueva caracterizada por el incremento de grosor coroideo con atenuación de la coriocapilar en la zona nasal. Esta afectación peripapilar en la zona nasal más pronunciada se manifiesta por una alteración del EPR localizada nasal y neovascularización. Los pacientes que presentan un grosor coroideo aumentado especialmente en la mitad nasal, muy frecuente asocian pliegues coroides e hipermetropía como defecto refractivo, lo más frecuente es que sean bilaterales y suelen ser refractarios a terapia Anti-VEGF, beneficiándose de la TFD de baja fluencia.

La teoría de la anastomosis de las venas vorticosas es común en síndromes paquicoroideos y se han descrito como posible causa, el sistema de venas vorticosas inferonasal se ve menos afectado que inferotemporal, superotemporal y superonasal, excepto en síndrome paquicoroideo peripapilar. Las conexiones anastomóticas son prominentes en el área macular en los casos

de CSC y NVC asociada a síndrome paquicoroideo, y alrededor del nervio óptico en síndromes peripapilares.

La TFD de baja fluencia en tratamiento combinado con antiangiogénicos o aislada en no respondedores nos ofrece buenos resultados. Con la reabsorción del fluido crónico se previenen las recurrencias. La TFD es superior y más segura en lesiones crónicas con afectación subfoveal o yuxtafoveal. A pesar de ser mas cara económicamente. TFD como tratamiento combinado en no respondedores da buenos resultados a corto plazo, resulta efectiva ya que mejora la MAVC, disminuye el grosor central foveal y es segura, puesto que no se notificaron efectos adversos en ninguno de nuestros pacientes. Aun así, existen efectos adversos notificados de la TFD que hay que tener en cuenta: la isquemia coroidea, la neovascularización coroidea (NVC) secundaria, la atrofia del EPR y que hay que realizarla Off-label, es decir, que está fuera de indicación de ficha técnica y se debe firmar un consentimiento informado (CI) siempre. Por fortuna al realizarla a baja fluencia, se aplica la mitad de dosis reduciéndose el riesgo de complicaciones. En resumen, la TFD de baja fluencia es efectiva y segura en lesiones crónicas con fluido subretiniano con afectación subfoveal o yuxtafoveal, a pesar de ser mas cara económicamente. Siempre hay que individualizar según el tipo de paciente y realizar una valoración de riesgo beneficio. Se debe informar al paciente de los efectos adversos y de las limitaciones del tratamiento. En resumen, el fluido subretiniano crónico puede asociar una disminución de AV en pacientes con síndrome paquicoroideo por alteración irreversible del EPR. El estudio de imagen multimodal e ICGA presenta una gran ventaja diagnóstica en pacientes con síndrome paquicoroideo. La TFD de baja fluencia ha demostrado mejorar la AV mediante la reabsorción de fluido subretiniano crónico en el síndrome paquicoroideo en pacientes no respondedores a Anti-VEGF. El empleo de Verteporfina y de Verde de Indiocianina no resultan dañinos para la salud ocular.

Existen estudios realizados en casos agudos del espectro paquicoroideo. Un estudio retrospectivo en 19 ojos con CSC Aguda a los que se aplicó TFD guiada por AVI. El diagnóstico de CSC se realizó por OCT y Angiografía con Fluoresceína (AFG). El área de hiperpermeabilidad se calculaba realizando AVI previa al

tratamiento con TDF. Se realizó una exploración Oftalmológica basal previa a la TFD con toma de la mejor agudeza visual corregida (MAVC), así como OCT con Cirrus SD-OCT y AFG que se repitieron al mes 1, 3, 6 y 12 tras el tratamiento. La ICG se realizó solamente previa a la TFD y al mes ya que no se encontró líquido subretiniano en ninguna otra visita. La edad media de los pacientes fue 45.9 ± 7.4 años (rango 34 – 67) y 11 de ellos eran hombres (57.9%). La MAVC mejoró una media de 5 letras al mes ($p < 0.006$), manteniéndose esta diferencia estadísticamente significativa en todas las visitas y llegando a una media de 9 letras a los 12 meses ($p < 0.001$). El Grosor Foveal Central (GFC) previo al tratamiento era 406 ± 86.79 (rango 287-607). Al mes ya había mejorado a 256 ± 64.98 , manteniéndose esta mejoría significativa hasta los 12 meses con un GFC 243 ± 29.1 ($p < 0.001$). Todos los pacientes mostraban antes del tratamiento con TFD fuga de líquido en la AFG y áreas de Hiperpermeabilidad en la AVI. Un mes tras el tratamiento no se observó fuga en la AFG en ningún caso. El spot de láser se aplicó en el área foveal en 15 casos y sólo en 4 extrafoveal. En ningún caso se observó recurrencia del líquido subfoveal durante los 12 meses del seguimiento. Tampoco observaron los autores ningún efecto adverso sistémico como consecuencia de la administración del Verteporfina, ni en el momento de la infusión ni durante los 12 meses de seguimiento. No observaron efectos adversos a nivel de retina ni EPR. El 80-90% de casos de CSC son casos de lo que se conoce como CSC clásica ó aguda. Se trata de una enfermedad autolimitada dónde la reabsorción del LSR se produce espontáneamente en un plazo menor de 6 meses. El 15-20% restante son casos de CSC crónica en los que el LSR persiste más de 6 meses y se producen cambios atróficos en retina y EPR con posible pérdida de visión definitiva. Durante los últimos años han aparecido numerosas publicaciones que avalan el uso de TFD como tratamiento de la CSC crónica y en otros síndromes del espectro paquicoroideo. El efecto se lograría a través de una “remodelación de la vascularización de la coriocapilar” que logra disminuir la hiperpermeabilidad existente. Con el fin de disminuir los posibles efectos adversos de la TFD tales como alteraciones secundarias del EPR, isquemia coroidea y pérdida de visión ó neovascularización coroidea, se

ha ido popularizando el uso de dosis reducidas de TFD (media dosis TFD, baja fluencia), que consiguen unas tasas de éxito similar con menos complicaciones. La forma de disminuir la “dosis” puede ser disminuir la dosis de Verteporfina, reducir la energía del láser ó el tiempo de exposición al mismo. En su estudio obtienen una rápida resolución del desprendimiento de neuroepitelio (100% al mes) con una reducción del GFC y mejoría de la AV estadísticamente significativa. Sabemos que a partir de los 4 meses de persistencia del líquido subretiniano se producen alteraciones en los fotorreceptores, atrofia del EPR y adelgazamiento de la retina, lo cual puede causar una pérdida de visión no recuperable. Es en este grupo de pacientes en los que el tratamiento está plenamente justificado para intentar evitar la pérdida de visión. No obstante la TFD no está exenta de riesgos a pesar de utilizarse en dosis reducidas Por ello parece justificada una actitud conservadora y no extender la indicación de TFD en la CSC aguda, al menos hasta los 4 meses del inicio de los síntomas, sin embargo en casos crónicos su uso estaría justificado si no hay reabsorción con Anti-VEGF o de manera combinada con la medicación antiangiogénica.

El papel de enfermería es muy importante e imprescindible con el paciente, sobretodo a la hora de realizar la prueba de AVI, ya que requiere tomar una vía venosa para inyectar la Verteporfina. Además ayudan con la toma de AV, PIO, refractometría y la realización de OCT macular para el seguimiento y control del FSR.

Conclusiones:

El fluído subretiniano crónico puede asociar una disminución de AV en pacientes con síndrome paquicorideo por alteración irreversible del epitelio pigmentario de la retina.

El estudio de imagen multimodal mediante angiografía con verde de indocianina presenta una gran ventaja diagnóstica y terapéutica en pacientes con síndrome paquicorideo.

La terapia fotodinámica de baja fluencia ha demostrado mejorar la AV mediante la reabsorción de fluído subretiniano crónico en el

síndrome paquicoroideo en pacientes no respondedores a Anti-VEGF.

Se necesitan más estudios aleatorizados con grupo control para evaluar el efecto a largo plazo de la terapia fotodinámica de baja fluencia en síndromes paquicoroideos. A corto plazo resulta ser efectiva y segura.

Uso de electroporación en terapia optogenética para restauración visual de ratones rd10

José David Celdrán López, María José Verdú
Polvorinos, Lawrence Humphreys, Cristina Soto
Sánchez, Gema Martínez Navarrete, Eduardo
Fernández Jover

Unidad de Neuroprótesis y Restauración Visual, Instituto
de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández (UMH)

INTRODUCCIÓN

La retinitis pigmentosa (RP) es definida como un grupo heterogéneo de enfermedades genéticas hereditarias en las cuales se produce una progresiva degeneración de fotorreceptores, con la subsecuente degeneración del epitelio pigmentario (1-4). Con una prevalencia de 1 de cada 4000 individuos (5), es la distrofia retinal heredada más común del mundo. Síntomas característicos de esta enfermedad comprenden ceguera nocturna (debido a la pérdida de bastones), pérdida del campo visual periférico que da lugar a visión túnel, pérdida de visión en color (debido a la pérdida de conos) y fotofobia (6). La caracterización de la RP puede realizarse por medio de electroretinograma (ERG), donde las señales retinales decrecen, así como por medio de examen del fondo del ojo, pudiendo observarse tres características fundamentales: el desarrollo de un aspecto moteado de la retina, un aspecto amarillo ceroso del disco óptico, y la atenuación de los vasos sanguíneos (6).

Aunque, actualmente, no existe una cura para la RP, múltiples tratamientos han sido empleados para tratar o, al menos, paliar los síntomas de esta enfermedad. La suplementación con vitamina A, ácido docohexanoico (DHA) y luteína ha sido realizada en pacientes con RP, aunque no se ha observado diferencia estadística significativa entre grupos de pacientes sanos y pacientes con RP

cuando se realizaron exámenes de ERG (7-9). Debido a la progresiva pérdida de fotorreceptores característica de la RP, la terapia celular ha sido contemplada, habiéndose realizado experimentos de terapia celular reemplazando los fotorreceptores degenerados por células madre y luego diferenciándolas en fotorreceptores sanos (10-11); no obstante, este tipo de terapia puede presentar inconvenientes tales como inflamación, rechazo, baja tasa de supervivencia y la formación de teratomas (10-12). Teniendo en cuenta la naturaleza genética de la RP, la terapia génica también ha sido contemplada, siendo aprobada en 2017 por la FDA una terapia que reemplaza el gen RPE65 (un gen esencial para el ciclo visual) mutado por una copia sin mutaciones (13-14), mostrando los pacientes una mejora en la función visual sin efectos adversos.

Dentro del contexto de la terapia génica, conviene hablar de la optogenética. La optogenética es una técnica que consiste en la expresión ectópica de proteínas fotosensibles (denominadas opsinas) que permite controlar la actividad celular con precisión de milisegundos (15). Dos tipos de opsinas comúnmente utilizadas en optogenética son las canalrodopsinas y las halorodopsinas: las canalrodopsinas son canales iónicos que permean cationes (16-17) o aniones (18) en las células cuando son fotoestimulados, mientras que las halorodopsinas son bombas iónicas que permean aniones cuando son fotoestimulados (19). Con todo esto, la optogenética ha surgido como una prometedora alternativa para tratar la RP, principalmente por la capacidad de conseguir que estas retinas degeneradas puedan recuperar la fotosensibilidad. De hecho, varios estudios se han realizado utilizando optogenética para fotosensibilizar distintos tipos celulares de las retinas de modelos animales de RP, como son los fotorreceptores degenerados (20), las células bipolares (21) y las células ganglionares (22), habiendo incluso un ensayo clínico en humanos hoy en día para tratar la RP por medio de optogenética (23).

Un aspecto en común que tienen estos estudios es que utilizan vectores virales para introducir en las células de interés los genes que codifican para las opsinas. Los vectores virales suelen ser muy efectivos a la hora de expresar los genes en múltiples células y por un tiempo prolongado, pero presentan serios inconvenientes, tales como inmunogenicidad, limitación en el tamaño del inserto

genético que pueden transportar, producción de toxinas y mutagénesis insercional (24-25). En contraste, los vectores no virales no presentan inmunogenicidad, pueden transportar un inserto genético de mayor tamaño, no producen toxinas y no se insertan en el genoma de las células (26). Dentro de los vectores no virales, la electroporación, un método caracterizado por la aplicación de pulsos eléctricos para la introducción de material genético en las células, ha sido utilizado con anterioridad en optogenética para introducir la ChR2 (una canalrodopsina procedente de *Chlamydomonas reinhardtii* (17)) en células bipolares, obteniendo resultados muy prometedores (27). Sin embargo, la ChR2 original de *Chlamydomonas reinhardtii* no tiene una cinética muy rápida y requiere una intensidad de luz azul (470 nm) alta para activarse; en contraste, otras opsinas presentan ventajas frente a ChR2, como CatCh, que es una canalrodopsina traslocadora de calcio que tiene una cinética muy rápida y requiere una luz azul menos intensa para activarse (28), o como ChrimsonR, una canalrodopsina desplazada al rojo que se activa con luz ámbar (590 nm) (29), siendo esta última característica deseable, ya que cuanto más desplazada está la luz hacia el rojo, más profundo penetra en los tejidos (30).

OBJETIVOS

El principal objetivo fue introducir, mediante electroporación, los plásmidos que codifican para las proteínas optogenéticas CatCh y ChrimsonR en las retinas de modelos de ratón para la enfermedad de la retinitis pigmentosa y producir, en última instancia, la restauración visual de los mismos. Para evaluar la rehabilitación visual de los ratones electroporados, se llevaron a cabo pruebas de comportamiento, inmunohistoquímicas y registros electrofisiológicos.

METODOLOGÍA

En primer lugar, se caracterizó la funcionalidad de las opsinas CatCh y ChrimsonR en neuronas corticales de rata *in vitro*. Para ello, se utilizó un plásmido que codifica para la opsina CatCh con el reporter YFP (*Yellow Fluorescent Protein*) bajo el promotor general

CMV (pCMV-CatCh-YFP), y un plásmido que codifica para la opsina ChrimsonR con el reporter del tdT (tdTomato) bajo el promotor general CAG (pCAG-ChrimsonR-tdT) (Figura 1A). Estos plásmidos fueron introducidos en las neuronas corticales por medio de una nanopartícula lipídica denominada Lipofectamina; después, las neuronas que expresaban las opsinas (las que eran fluorescentes gracias a los reporters), fueron registradas por medio de la técnica del patch clamp mientras eran fotoestimuladas (4 pulsos de 200 ms cada uno) con el propósito de observar cambios en su actividad y, por tanto, determinar si las opsinas eran funcionales o no (Figura 1B).

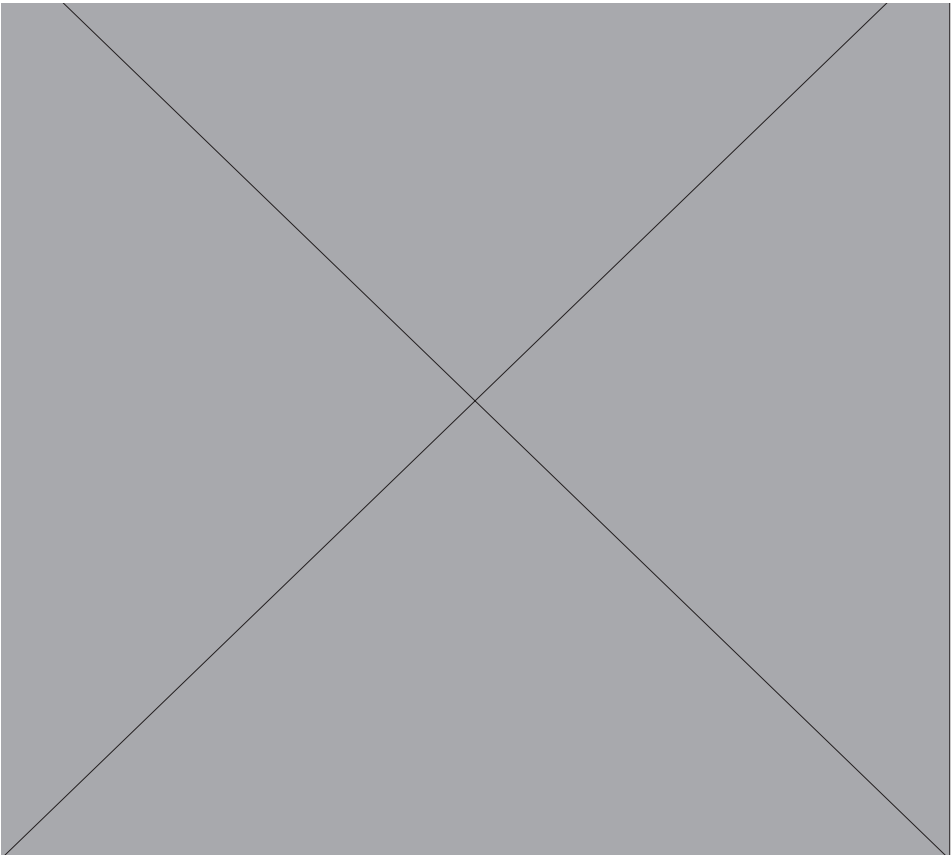


Figura 1.- Variantes optogenéticas empleadas y su caracterización en neuronas corticales. (A) El plásmido pCMV-CatCh-YFP codifica para la opsina CatCh (activada con luz azul) con el reporter YFP bajo el promotor CMV, mientras que el plásmido pCAG-ChrimsonR-tdT codifica para la opsina ChrimsonR (activada con luz ámbar) con el reporter tdTomato bajo el promotor CAG. (B) Los plásmidos que codifican para las opsinas fueron introducidos por la nanopartícula lipídica Lipofectamina en neuronas corticales de rata in vitro y, una vez estas neuronas expresaron las opsinas, su actividad fue registrada con patch clamp mientras eran fotoestimuladas con las correspondientes longitudes de onda. Imagen creada con BioRender.com.

Para la restauración visual, se utilizó el ratón rd10 como modelo animal de RP (31). Las retinas de estos ratones rd10 fueron electroporadas a 90 V con entre 0 y 4 días después de nacer (P0-P4) para introducir en ellas los plásmidos optogenéticos. Estos ratones electroporados fueron comparados con ratones control C57BL/6 (C57) sin la enfermedad de la RP y rd10 sin electroporar en pruebas de comportamiento. Los ratones de todos los grupos comenzaron sus pruebas de comportamiento entre P18 y P25. Las pruebas de comportamiento fueron: water maze, reflejo optomotor y dark box. El water maze (32) consistió en un laberinto de agua con 8 calles, habiendo en una de las calles un LED con una plataforma debajo, siendo entrenados los ratones para ir hacia ese LED y posarse en la plataforma, midiendo el tiempo que tardaban en llegar desde el centro del water maze hasta la plataforma y grabando el recorrido del ratón con una cámara infrarroja (elaborándose un posterior tracking con un programa creado en el laboratorio). La prueba de reflejo optomotor (33) consistió en colocar a un ratón en una plataforma que se ubicaba dentro de un cilindro giratorio, el cual era iluminado mientras giraba; con esta prueba se observaba (por medio de una cámara por encima del cilindro) si el ratón movía la cabeza de lado a lado al moverse el cilindro. El dark box (34) consistió en una caja con un compartimento iluminado y otro oscuro, midiéndose el porcentaje de tiempo que estaba el ratón en cada compartimento durante un periodo de 5 minutos, y grabándose al ratón desde abajo del dark box para hacer un posterior tracking con el programa SLEAP. Una vez finalizadas las pruebas, se extrajeron las retinas de los ratones y se realizaron inmunohistoquímicas (para determinar las células retinales en las que se expresaban las opsinas), y análisis electrofisiológicos con patch clamp y arrays de Utah (para determinar si las retinas recuperaban la fotosensibilidad). Toda esta información está esquematizada en la Figura 2.

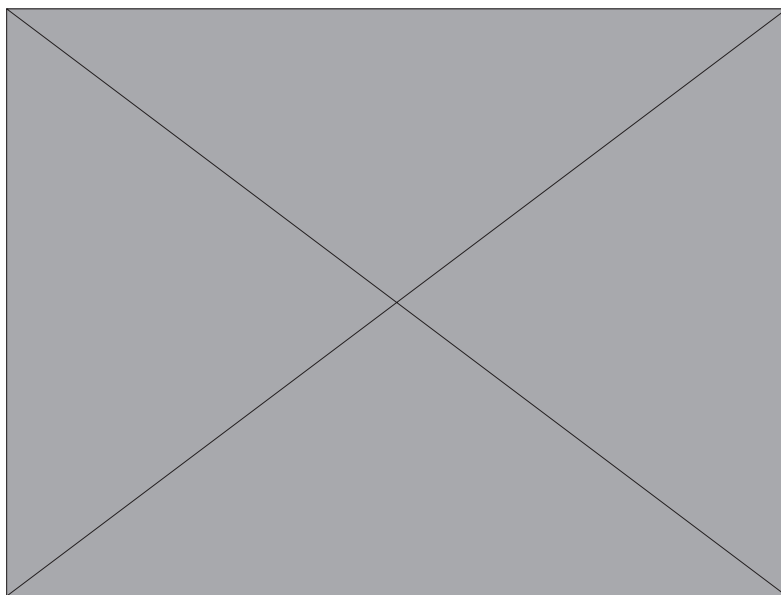


Figura 2.- Workflow de restauración visual. Ratones rd10 fueron electroporados entre P0 y P4 y comparados en pruebas de comportamiento con ratones C57 sin RP y rd10 sin electroporar. Las pruebas de comportamiento fueron water maze, reflejo optomotor y dark box y en todas se grabaron vídeos del comportamiento de los ratones. Una vez finalizadas las pruebas de comportamiento, se extrajeron las retinas de los ratones, se realizaron inmunohistoquímicas y análisis electrofisiológicos con patch clamp y arrays de Utah. Imagen creada con BioRender.com.

RESULTADOS

Los registros electrofisiológicos en neuronas corticales de rata in vitro que expresaban ChrimsonR (Figura 3A) mostraron que, cada vez que se aplicaba un pulso de luz a 590 nm a 200 ms, se producían entradas de corriente en modalidad voltage-clamp (VC) y potenciales de acción en modalidad current-clamp (CC) de forma muy precisa en dichas células (Figura 3B). Del mismo modo, cada vez que se aplicaban pulsos de luz a 470 nm en neuronas corticales que expresaban CatCh, se producían de forma precisa entradas de corriente en modalidad VC y potenciales de acción en modalidad CC en las células. Estos resultados prueban que las estas opsinas son capaces de despolarizar/activar células de forma eficiente

Una vez comprobada la eficacia de las opsinas para despolarizar células, se realizaron las electroporaciones de retinas de rd10 con CatCh, siendo la primera prueba de comportamiento realizada el water maze. Los resultados del tracking mostraron que, conforme pasaban los días, los ratones tardaban cada vez menos en llegar a la plataforma que se ubicaba debajo del LED, mientras que, si no tenían ninguna fuente de luz, no llegaban a subir a la plataforma o tardaban mucho más de la cuenta (Figura 4A). No obstante, cuando se compararon los tiempos que tardaban en llegar a la plataforma los ratones electroporados con CatCh y los rd10 sin electroporar, se observó que no había diferencia estadística significativa entre ambos grupos (Figura 4B).

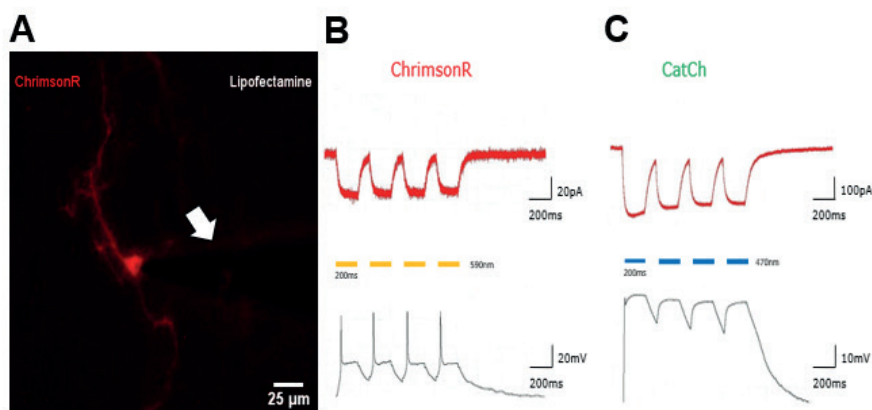


Figura 3.- Respuestas electrofisiológicas de neuronas corticales que expresan ChrimsonR y CatCh. (A) Neurona expresando ChrimsonR que ha sido transfectada con lipofectamina y que está siendo registrada con una pipeta para patch clamp (flecha blanca, barra de escala = 25 μ m). (B) Respuestas en modalidades voltage-clamp (VC) (arriba) y current-clamp (CC) (abajo) que muestran que, con cada pulso de luz de 590 nm y 200 ms de duración, se generan entradas de corriente y potenciales de acción, respectivamente. (C) Respuestas en modalidades VC (arriba) y CC (abajo) que muestran que, con cada pulso de luz de 470 nm y 200 ms de duración, se generan entradas de corriente y potenciales de acción, respectivamente.

Una vez comprobada la eficacia de las opsinas para despolarizar células, se realizaron las electroporaciones de retinas de rd10 con CatCh, siendo la primera prueba de comportamiento realizada el water maze. Los resultados del tracking mostraron que, conforme pasaban los días, los ratones tardaban cada vez menos en llegar a la plataforma que se ubicaba debajo del LED, mientras que, si no

tenían ninguna fuente de luz, no llegaban a subir a la plataforma o tardaban mucho más de la cuenta (Figura 4A). No obstante, cuando se compararon los tiempos que tardaban en llegar a la plataforma los ratones electroporados con CatCh y los rd10 sin electroporar, se observó que no había diferencia estadística significativa entre ambos grupos (Figura 4B).

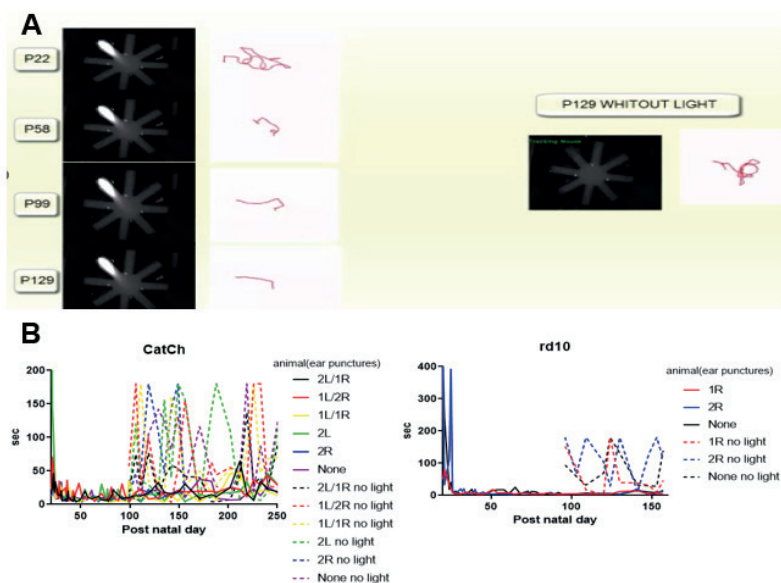


Figura 4.- Prueba de comportamiento water maze en ratones electroporados con CatCh. (A) Trackings de ratones electroporados con CatCh a P22, P58, P99 y P129 (izquierda) que muestran que los ratones cada vez tardan menos tiempo en llegar a la plataforma donde se encuentra el LED, mientras que el tracking a P129 sin luz (derecha) muestra que el ratón permanece nadando durante un tiempo y sin llegar a la plataforma. (B) Line plot de los tiempos que tardan los ratones en llegar a la plataforma (sec) frente a la edad (post natal day) en ratones electroporados (CatCh) y sin electroporar (rd10), en los cuáles se observó que no había una diferencia estadística significativa entre grupos en cuanto al tiempo empleado en llegar a la plataforma donde se ubicaba el LED.

La siguiente prueba de comportamiento realizada en ratones electroporados con CatCh fue la de reflejo optomotor, siendo comparados ratones electroporados con CatCh con ratones C57. Los resultados mostraron que, por lo general, la agudeza visual de los ratones electroporados con CatCh era inferior a la de los ratones C57, especialmente de P27 en adelante, siendo nula a P39 (Figura 5).

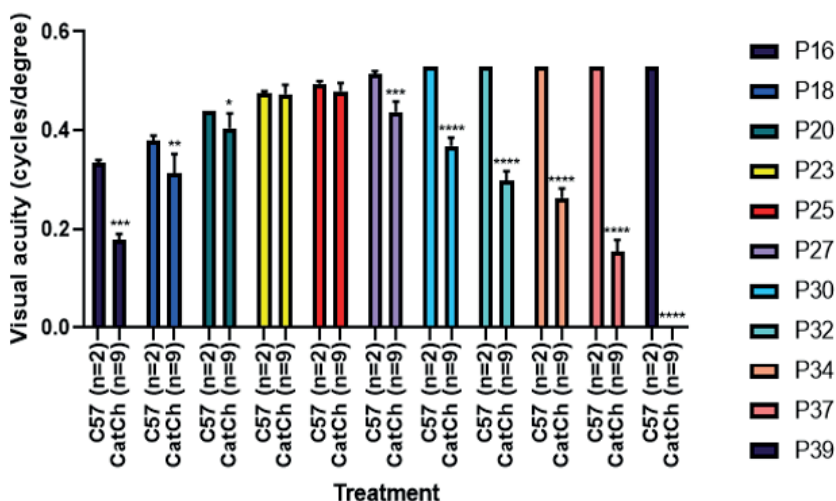


Figura 5.- Prueba de reflejo optomotor en ratones electroporados con CatCh. Los ratones electroporados con CatCh, exceptuando las edades P23 y P25, tuvieron menos agudeza visual que los ratones C57, sobre todo desde la edad P27 en adelante, mostrando que el tratamiento no fue efectivo para restaurar la agudeza visual de los ratones con RP.

Una vez los ratones electroporados con CatCh concluyeron estas pruebas de comportamiento, se extrajeron sus retinas y se realizaron inmunohistoquímicas. La inmunohistoquímica realizada con el anticuerpo anti-PKC α (un marcador específico de células bipolares asociadas a bastones (34)), mostró colocación con células que expresaban CatCh, lo que indicaba que las células bipolares asociadas a bastones podían expresar CatCh (Figuras 6A-6B). Al ser las células bipolares células esenciales para reiniciar el ciclo visual y llevarlo a centros visuales superiores, se procedió a determinar si las retinas recuperaban su fotosensibilidad. Para ello, se registraron la retina con un array de Utah y se fotoestimularon con pulsos de luz azul (470 nm) de 0,5 s. Los resultados mostraron que en las retinas de ratones electroporados con CatCh había respuestas electrofisiológicas características de células ganglionares ON, OFF y ON-OFF, cosa que no sucedía con retinas de ratones rd10 sin electroporar (Figura 6C), mostrando que, en ratones electroporados con CatCh, se restauraba cierta sensibilidad a la luz azul.

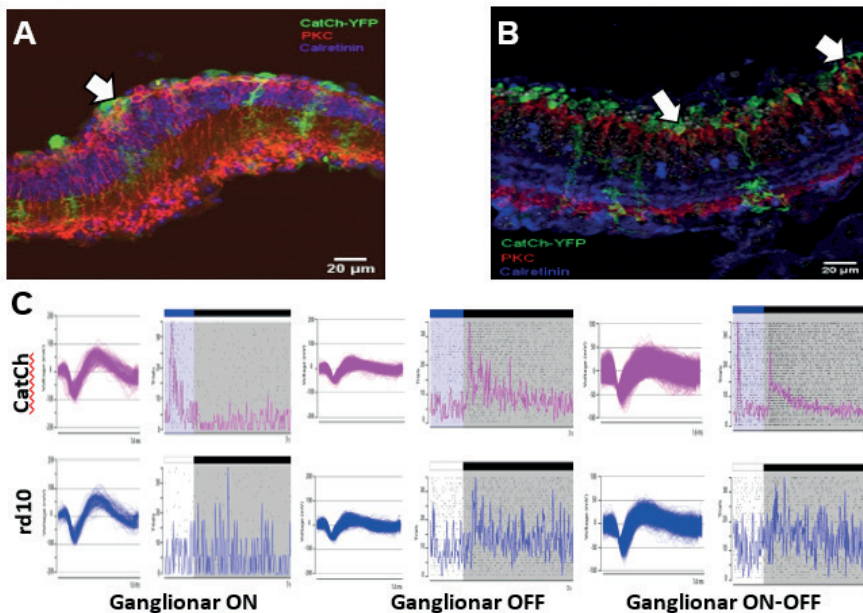


Figura 6.- Inmunohistoquímicas y registros electrofisiológicos de retinas de ratones electroporados con CatCh. (A-B) Inmunohistoquímicas con los marcadores de PKC α (células bipolares asociadas a bastones) y calretinina (células amacrininas) en retinas de ratones electroporados con CatCh, las cuales nos muestran que hay colocalización de CatCh con el marcador de PKC α (flechas blancas, barras de escala = 20 μ m). (C) Registros electrofisiológicos realizados con arrays de Utah mostraron que en retinas electroporadas con CatCh (gráficos rosas) se producían señales características de células ganglionares ON, OFF y ON-OFF con pulsos de luz a 470 nm de 0,5 s, a diferencia de lo que ocurría en retinas de ratones rd10 sin electroporar (gráficos azules).

Cuando se realizaron pruebas de comportamiento de reflejo optomotor en ratones electroporados con ChrimsonR y ratones C57, observándose resultados de agudeza visual nulos con ambos grupos a lo largo del tiempo. En cuanto a la prueba de comportamiento de dark box, se compararon ratones electroporados con ChrimsonR con ratones rd10 sin electroporar y ratones C57. Los resultados mostraron que, generalmente, no había una diferencia estadística en cuanto al porcentaje de tiempo que el ratón permanecía en el compartimento oscuro mientras en el iluminado había luz ámbar (590 nm), exceptuando los ratones a la edad de P31 entre ratones electroporados con ChrimsonR y C57, y a la edad de P54, permaneciendo en esta última edad significativamente más tiempo en el compartimento oscuro los ratones electroporados con ChrimsonR que los rd10

sin electroporar (Figuras 7A-7B). En los vídeos obtenidos de los ratones a P54 se realizó un tracking y se observó que los ratones electroporados con ChrimsonR efectivamente permanecían más tiempo en el compartimento oscuro, a diferencia de lo que ocurría en ratones C57 y rd10 sin electroporar (Figura 7C)

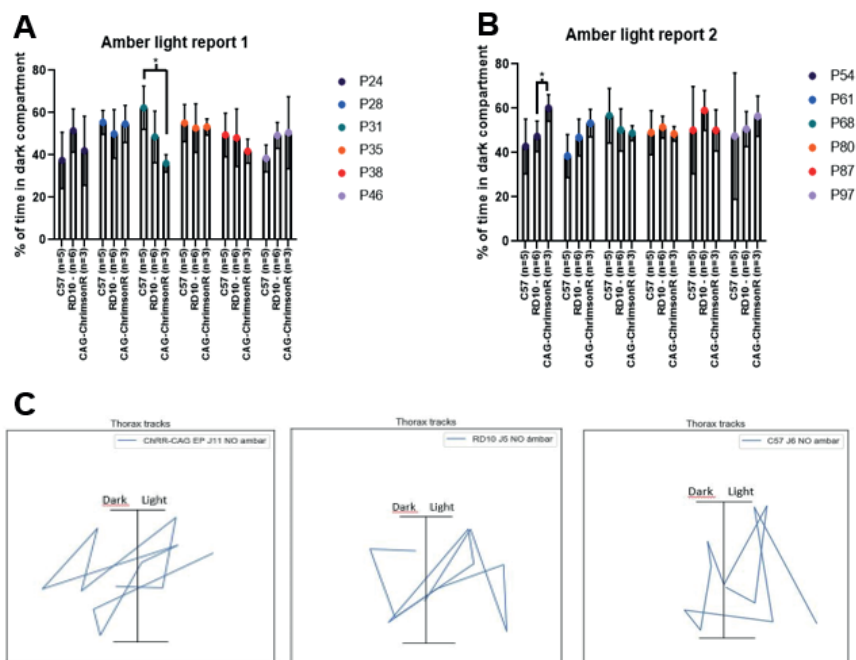


Figura 7.- Prueba de dark box en ratones electroporados con ChrimsonR. (A-B) El porcentaje de tiempo en el compartimento oscuro del dark box no fue significativamente diferente entre ratones electroporados con ChrimsonR, C57 y rd10 sin electroporar, a excepción de a P31 entre ratones electroporados y C57 y a P54 entre ratones electroporados y rd10 sin electroporar. (C) Trackings del movimiento entre compartimentos de ratones ejemplo: electroporado con ChrimsonR (izquierda), rd10 sin electroporar (centro), y C57 (derecha); estos trackings muestran como el ratón electroporado tiende a permanecer más tiempo en el compartimento oscuro los ratones de los otros dos grupos.

Con las pruebas de comportamiento concluidas, se extrajeron las retinas de los ratones y se realizaron inmunohistoquímicas. Las inmunohistoquímicas revelaron que ChrimsonR se expresaba tanto en células que expresaban tanto el marcador de PKC α (bipolares), como el de Brn3a (ganglionares (35)), dos tipos de células esenciales para reiniciar el ciclo visual (Figuras 8A-8B). El hecho de que se confirmase la expresión de ChrimsonR en células ganglionares facilitó el registro electrofisiológico por

medio de patch clamp. Los registros en patch clamp mostraron que las células ganglionares que expresaban ChrimsonR eran eficientemente despolarizadas cada vez que estas eran fotoestimuladas con pulsos de luz ámbar (590 nm) de 5 ms. Más concretamente, se observaba la entrada de corriente en VC y la generación de potenciales de acción en CC por cada pulso de luz (Figura 8C).

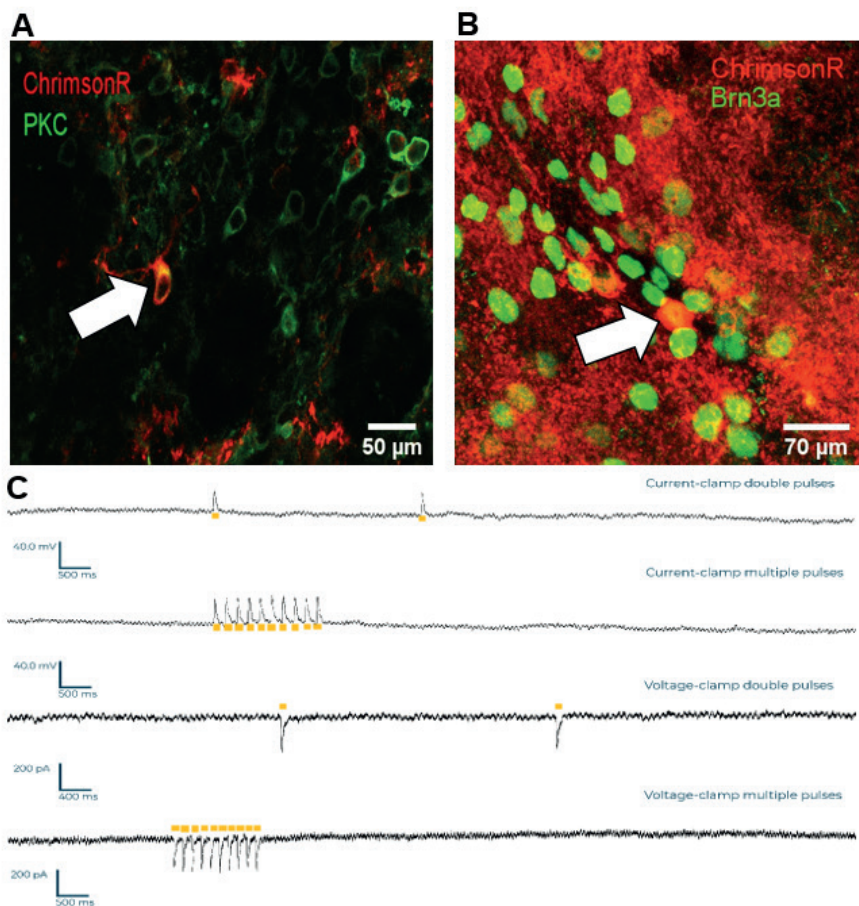


Figura 8.- Inmunohistoquímicas y análisis electrofisiológicos de retinas electroporadas con ChrimsonR. (A) Inmunohistoquímica donde se muestra colocación del marcador PKC α (células bipolares) con ChrimsonR (flecha blanca, barra de escala = 50 μ m). (B) Inmunohistoquímica donde se muestra colocación del marcador Brn3a (células ganglionares) con ChrimsonR (flecha blanca, barra de escala = 70 μ m). (C) Registros electrofisiológicos con patch clamp que muestran que cada pulso de luz a 590 nm de 5 ms de duración (rectángulos ámbar) produce, de forma precisa y efectiva, potenciales de acción (CC) y entradas de corriente (VC) en células ganglionares electroporadas que expresan ChrimsonR,

DISCUSIÓN

Aunque la electroporación consigue introducir de forma efectiva los genes de las opsinas CatCh y ChrimsonR en células retinales de ratones rd10 que son fundamentales para reiniciar el ciclo visual (como son las células bipolares y ganglionares), los rd10 electroporados no tienen un comportamiento visual diferenciado con respecto a ratones rd10 sin electroporar o, al menos, similar a ratones control C57. Teniendo en cuenta que las proteínas optogenéticas introducidas son funcionales, es posible que no haya un número de células transfectadas lo suficientemente alto como para producir un comportamiento visual diferenciado, tal como si ocurre en otros estudios donde, en su lugar, se utilizaban vectores virales para introducir los genes de las opsinas en retinas de modelos de ratón con degeneración retinal (20-22). También es posible que, en ciertas pruebas de comportamiento donde, ocasionalmente, parece haber un comportamiento visual definido, se deba a la presencia de conos residuales o células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (36), especialmente en retinas electroporadas con CatCh, las cuales fueron fotoestimuladas con luz azul. El hecho de que los ratones C57 no respondieran a la prueba de reflejo optomotor con luz ámbar es posible que se deba a las serias dificultades que presentan los ratones para detectar la luz roja (37).

CONCLUSIONES

La electroporación ha probado ser una herramienta eficaz para introducir los plásmidos que codifican para las opsinas CatCh y ChrimsonR en retinas de ratones rd10. No obstante, este tratamiento no genera un comportamiento visual diferenciado frente a ratones rd10 sin tratar o un comportamiento visual similar a ratones C57. Aún con todo esto, la electroporación puede servir como control positivo de vector no viral para terapia génica y, dado que los vectores no virales son muy variados, sería recomendable buscar otras alternativas no virales con las que se pueda conseguir una terapia optogenética lo bastante eficaz como para producir una restauración visual efectiva.

REFERENCIAS

1. Berson E. Retinitis pigmentosa and allied diseases. In: Albert DM, Jakobied FA, eds. Principles and practice of ophthalmology: clinical practice, Vol 3, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1994:1214
2. Haim M. (2002). Epidemiology of retinitis pigmentosa in Denmark. *Acta ophthalmologica Scandinavica. Supplement*, (233), 1–34.
3. Marc, R. E., Jones, B. W., Watt, C. B., & Strettoi, E. (2003). Neural remodeling in retinal degeneration. *Progress in retinal and eye research*, 22(5), 607–655.
4. Natarajan S. (2011). Retinitis pigmentosa: a brief overview. *Indian journal of ophthalmology*, 59(5), 343–346.
5. Pagon, R. A. (1988). Retinitis pigmentosa. *Survey of ophthalmology*, 33(3), 137–177.
6. Shintani, K., Shechtman, D. L., & Gurwood, A. S. (2009). Review and update: current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa. *Optometry (St. Louis, Mo.)*, 80(7), 384–401.
7. Berson, E. L., Rosner, B., Sandberg, M. A., Hayes, K. C., Nicholson, B. W., Weigel-DiFranco, C., & Willett, W. (1993). A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 111(6), 761–772.
8. Hoffman, D. R., Locke, K. G., Wheaton, D. H., Fish, G. E., Spencer, R., & Birch, D. G. (2004). A randomized, placebo-controlled clinical trial of docosahexaenoic acid supplementation for X-linked retinitis pigmentosa. *American journal of ophthalmology*, 137(4), 704–718.
9. Bahrami, H., Melia, M., & Dagnelie, G. (2006). Lutein supplementation in retinitis pigmentosa: PC-based vision assessment in a randomized double-masked placebo-controlled clinical trial [NCT00029289]. *BMC ophthalmology*, 6, 23.
10. Singh, M. S., Charbel Issa, P., Butler, R., Martin, C., Lipinski, D. M., Sekaran, S., Barnard, A. R., & MacLaren, R. E. (2013). Reversal of end-stage retinal degeneration and restoration of visual function by photoreceptor transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(3), 1101–1106.
11. Kim, J. Y., You, Y. S., Kim, S. H., & Kwon, O. W. (2017). EPIRETINAL MEMBRANE FORMATION AFTER INTRAVITREAL AUTOLOGOUS STEM CELL IMPLANTATION IN A RETINITIS PIGMENTOSA PATIENT. *Retinal cases & brief reports*, 11(3), 227–231.
12. Arnhold, S., Klein, H., Semkova, I., Addicks, K., & Schraermeyer, U. (2004). Neurally selected embryonic stem cells induce tumor formation after long-

term survival following engraftment into the subretinal space. *Investigative ophthalmology & visual science*, 45(12), 4251–4255.

13. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss [FDA website]. 2017. Available at: www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm589467.htm. Accessed May 26, 2018.

14. Russell, S., Bennett, J., Wellman, J. A., Chung, D. C., Yu, Z. F., Tillman, A., Wittes, J., Pappas, J., Elci, O., McCague, S., Cross, D., Marshall, K. A., Walshire, J., Kehoe, T. L., Reichert, H., Davis, M., Raffini, L., George, L. A., Hudson, F. P., Dingfield, L., ... Maguire, A. M. (2017). Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* (London, England), 390(10097), 849–860.

15. Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., & Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nature neuroscience*, 8(9), 1263–1268.

16. Nagel, G., Ollig, D., Fuhrmann, M., Kateriya, S., Musti, A. M., Bamberg, E., & Hegemann, P. (2002). Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science* (New York, N.Y.), 296(5577), 2395–2398.

17. Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P., & Bamberg, E. (2003). Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(24), 13940–13945.

18. Govorunova, E. G., Sineshchekov, O. A., Janz, R., Liu, X., & Spudich, J. L. (2015). NEUROSCIENCE. Natural light-gated anion channels: A family of microbial rhodopsins for advanced optogenetics. *Science* (New York, N.Y.), 349(6248), 647–650.

19. Zhang, F., Wang, L. P., Brauner, M., Liewald, J. F., Kay, K., Watzke, N., Wood, P. G., Bamberg, E., Nagel, G., Gottschalk, A., & Deisseroth, K. (2007). Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*, 446(7136), 633–639.

20. Busskamp, V., Duebel, J., Balya, D., Fradot, M., Viney, T. J., Siebert, S., Groner, A. C., Cabuy, E., Forster, V., Seeliger, M., Biel, M., Humphries, P., Paques, M., Mohand-Said, S., Trono, D., Deisseroth, K., Sahel, J. A., Picaud, S., & Roska, B. (2010). Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa. *Science* (New York, N.Y.), 329(5990), 413–417.

21. Doroudchi, M. M., Greenberg, K. P., Liu, J., Silka, K. A., Boyden, E. S., Lockridge, J. A., Arman, A. C., Janani, R., Boye, S. E., Boye, S. L., Gordon, G. M., Matteo, B. C., Sampath, A. P., Hauswirth, W. W., & Horsager, A. (2011). Virally delivered channelrhodopsin-2 safely and effectively restores visual function in

multiple mouse models of blindness. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 19(7), 1220–1229.

22. Tomita, H., Sugano, E., Isago, H., Hiroi, T., Wang, Z., Ohta, E., & Tamai, M. (2010). Channelrhodopsin-2 gene transduced into retinal ganglion cells restores functional vision in genetically blind rats. *Experimental eye research*, 90(3), 429–436.

23. Sahel, J. A., Boulanger-Scemama, E., Pagot, C., Arleo, A., Galluppi, F., Martel, J. N., Esposti, S. D., Delaux, A., de Saint Aubert, J. B., de Montleau, C., Gutman, E., Audo, I., Duebel, J., Picaud, S., Dalkara, D., Blouin, L., Tsiel, M., & Roska, B. (2021). Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nature medicine*, 27(7), 1223–1229.

24. Bulcha, J. T., Wang, Y., Ma, H., Tai, P., & Gao, G. (2021). Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 53.

25. Lundstrom K. (2018). Viral Vectors in Gene Therapy. *Diseases* (Basel, Switzerland), 6(2), 42.

26. Foldvari, M., Chen, D. W., Nafissi, N., Calderon, D., Narsineni, L., & Rafiee, A. (2016). Non-viral gene therapy: Gains and challenges of non-invasive administration methods. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 240, 165–190.

27. Lagali, P. S., Balya, D., Awatramani, G. B., Münch, T. A., Kim, D. S., Busskamp, V., Cepko, C. L., & Roska, B. (2008). Light-activated channels targeted to ON bipolar cells restore visual function in retinal degeneration. *Nature neuroscience*, 11(6), 667–675.

28. Kleinlogel, S., Feldbauer, K., Dempski, R. E., Fotis, H., Wood, P. G., Bamann, C., & Bamberg, E. (2011). Ultra light-sensitive and fast neuronal activation with the Ca²⁺-permeable channelrhodopsin CatCh. *Nature neuroscience*, 14(4), 513–518.

29. Klapoetke, N. C., Murata, Y., Kim, S. S., Pulver, S. R., Birdsey-Benson, A., Cho, Y. K., Morimoto, T. K., Chuong, A. S., Carpenter, E. J., Tian, Z., Wang, J., Xie, Y., Yan, Z., Zhang, Y., Chow, B. Y., Surek, B., Melkonian, M., Jayaraman, V., Constantine-Paton, M., Wong, G. K., ... Boyden, E. S. (2014). Independent optical excitation of distinct neural populations. *Nature methods*, 11(3), 338–346.

30. Ash, C., Dubec, M., Donne, K., & Bashford, T. (2017). Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods. *Lasers in medical science*, 32(8), 1909–1918.

31. Gargini, C., Terzibasi, E., Mazzoni, F., & Strettoi, E. (2007). Retinal organization in the retinal degeneration 10 (rd10) mutant mouse: a

morphological and ERG study. *The Journal of comparative neurology*, 500(2), 222–238.

32. Pang, J. J., Chang, B., Kumar, A., Nusinowitz, S., Noorwez, S. M., Li, J., Rani, A., Foster, T. C., Chiodo, V. A., Doyle, T., Li, H., Malhotra, R., Teusner, J. T., McDowell, J. H., Min, S. H., Li, Q., Kaushal, S., & Hauswirth, W. W. (2006). Gene therapy restores vision-dependent behavior as well as retinal structure and function in a mouse model of RPE65 Leber congenital amaurosis. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 13(3), 565–572.

33. Felgerolle, C., Hébert, B., Ardourel, M., Meyer-Dilhet, G., Menuet, A., Pinto-Morais, K., Bizot, J. C., Pichon, J., Briault, S., & Perche, O. (2019). Visual Behavior Impairments as an Aberrant Sensory Processing in the Mouse Model of Fragile X Syndrome. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 13, 228.

34. Ruether, K., Feigenspan, A., Pirngruber, J., Leitges, M., Baehr, W., & Strauss, O. (2010). PKC α is essential for the proper activation and termination of rod bipolar cell response. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(11), 6051–6058.

35. Nadal-Nicolás, F. M., Jiménez-López, M., Sobrado-Calvo, P., Nieto-López, L., Cánovas-Martínez, I., Salinas-Navarro, M., Vidal-Sanz, M., & Agudo, M. (2009). Brn3a as a marker of retinal ganglion cells: qualitative and quantitative time course studies in naive and optic nerve-injured retinas. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50(8), 3860–3868.

36. Viénot, F., Brettel, H., Dang, T. V., & Le Rohellec, J. (2012). Domain of metamers exciting intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs) and rods. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision*, 29(2), A366–A376.

37. Peirson, S. N., Brown, L. A., Potheary, C. A., Benson, L. A., & Fisk, A. S. (2018). Light and the laboratory mouse. *Journal of neuroscience methods*, 300, 26–36.

DIAGNÓSTICO DE LINFOMA CEREBRAL PRIMARIO A PARTIR DE ESTUDIO RETINIANO CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA

Autor: María de los Reyes Retamero Sánchez
Coautores: Carmen Miquel López, Elena Rubio
Velázquez, José Javier García Medina.

INTRODUCCIÓN

El linfoma cerebral primario es una patología potencialmente mortal en la que a veces es difícil llegar al diagnóstico, sobre todo en estadios precoces. El subtipo más frecuente es el linfoma de células grandes B, muy agresivo y potencialmente letal. En algunos pacientes la primera manifestación puede ser un síndrome paraneoplásico con afectación retiniana que puede preceder, incluso varios meses, a las lesiones cerebrales. Es importante incluir el linfoma en nuestro diagnóstico diferencial cuando vemos alteraciones hiperrefringentes, viteliformes y nubosas del epitelio pigmentario de la retina. La apariencia inicial puede ser de vitritis, coriorretinitis e incluso uveítis, pero no deben hacer que nos olvidemos de este síndrome paraneoplásico.

OBJETIVOS

Identificar la presentación atípica de un linfoma de sistema nervioso central cuya primera manifestación fue la afectación retiniana a nivel macular. Describir los hallazgos de una maculopatía viteliforme nubosa, asociada a vitritis y formando parte del cuadro paraneoplásico. Describir la naturaleza y evolución de la maculopatía viteliforme nubosa en pacientes con linfoma del sistema nervioso central o con linfoma vitreoretiniano y proponer un mecanismo para su curso y desarrollo. T A v w x y x

METODOLOGÍA

Caso clínico observacional retrospectivo. Examinación clínica y análisis de estudios de imagen multimodales, incluyendo autofluorescencia, angiografía fluoresceínica y tomografía de coherencia óptica con dominio espectral (SD-OCT). Estudio complementario de la literatura.

RESULTADOS

Varón de 55 años con alteraciones de la agudeza visual en el ojo izquierdo que acude a consulta en marzo de 2021. En la imagen del fondo de ojo apreciamos focos de vitritis y coriorretinitis en las arcadas vasculares inferiores, tanto temporal como nasal. La tomografía de coherencia óptica mostró un depósito subfoveal viteliforme hiperrefringente y nuboso en el epitelio pigmentario de la retina, que estaba engrosado. Inicialmente se diagnosticó de toxoplasmosis- por las alteraciones retinianas características y un resultado en la serología de IgG de baja avidez para toxoplasma positivo- y se inició tratamiento con cotrimoxazol y corticoides, con aparente buena respuesta inicial. A lo largo del mes de abril, mejoraron los depósitos subfoveales y la vitritis, pero en mayo sufre una recaída- con engrosamiento del epitelio pigmentario de la retina- por lo que se intenta tratar con segunda línea de medicación para toxoplasma con pirimetamina y sulfadiazina, sin especial mejoría en la tomografía de coherencia óptica. En el mes de junio, sobre el engrosamiento crece un depósito viteliforme y nuboso de nuevo en tomografía de coherencia óptica. Durante la última recaída, en septiembre de 2021, las lesiones de tomografía de coherencia óptica del ojo izquierdo no son tan llamativas, pero aparece también un depósito subfoveal en el ojo derecho. Estas nuevas alteraciones, asociadas a la aparición de síntomas sistémicos entre los que se incluye cefalea, se decide realizar una resonancia magnética cerebral, con resultados inespecíficos. Se suspende el tratamiento corticoideo para realizar de nuevo la prueba de imagen, en la que ahora se aprecia una lesión temporo-parietal compatible con un linfoma cerebral primario, que se biopsia. Los resultados de anatomía patológica definen la lesión como un linfoma primario cerebral subtipo linfoma de

células grandes B. Al inicio del tratamiento sistémico se aprecia una disminución en forma y tamaño de la lesión cerebral. Los depósitos subretinianos y la vitritis se resolvieron, dejando un leve engrosamiento granular del epitelio pigmentario de la retina del ojo izquierdo, el más afectado durante las exacerbaciones, que se aprecian en las sucesivas tomografías de coherencia óptica.

La submaculopatía viteliforme nubosa puede aparecer de manera similar a la maculopatía viteliforme exudativa paraneoplásica y polimorfa, que puede asociar lesiones características del tipo viteliforme y polimorfo a nivel de la mácula, normalmente asociado a enfermedades paraneoplásicas. Ambos procesos incluyen la formación de detritus viteliforme subretiniano que es transitorio y que puede aparecer antes del proceso maligno sistémico de un linfoma primario vitreoretiniano o un linfoma primario del sistema nervioso central. La submaculopatía nubosa viteliforme aparece con el linfoma, mientras que la maculopatía viteliforme polimorfa exudativa y paraneoplásica aparece en casos de melanoma y en algunos casos de carcinoma. Clínicamente, la submaculopatía viteliforme y nubosa es menos clara y puede no tener la usual hiperrefringencia que tienen las lesiones viteliformes vistas en la maculopatía viteliforme exudativa y paraneoplásica. Este hecho puede atribuirse al estadio de la lesión, dado que las lesiones viteliformes serosas pueden empezar sin alteraciones en la hiperrefringencia, convirtiéndose más tarde en lesiones hiperrefringentes y amarillentas, concluyendo así que el estadio de la lesión es importante para la interpretación de la angiofluorescencia. Lo que es más, las lesiones viteliformes submaculares aparecían como detritus amarillo subretiniano en una única lesión asociada a punteado, mientras que en la maculopatía viteliforme polimorfa exudativa y paraneoplásica aparecían focos polimorfos y multifocales pequeños. Las lesiones de la submaculopatía viteliforme nubosa de forma parecida a las lesiones de la maculopatía viteliforme polimorfa exudativa y paraneoplásica, puede presentar depósitos por gravitación en cámara anterior, que se acumulan formando un pseudohipopion. Con la imagen de tomografía óptica computarizada, las dos presentan lesiones hiperrefringentes debajo de la retina y por encima de la capa del epitelio pigmentario de la retina. Sin

embargo, a diferencia de la maculopatía viteliforme polimorfa exudativa y paraneoplásica, la banda en epitelio pigmentario de la retina que aparece en la submaculopatía viteliforme nubosa puede estar engrosada o interrumpida a causa de la enfermedad infiltrativa subyacente. Con el avance de la enfermedad, las lesiones secundarias asociadas a las complicaciones de las lesiones viteliformes pueden aparecer, entre ellas encontramos el agujero macular y las neovascularizaciones coroideas, aunque la más temida es la atrofia.

Aunque la patogénesis de la submaculopatía viteliforme nubosa paraneoplásica en el linfoma vitreoretiniano primario no se conoce bien, se cree que este material consiste en cantidades variables de lipofusina, gránulos de melanofusina en los macrófagos y material extracelular derivado de los discos del segmento externo de los fotorreceptores que se acumulan en el espacio subretiniano a causa de la disfunción del epitelio pigmentario de la retina, resultante de la infiltración subepitelial del epitelio pigmentario de la retina por de las células tumorales. En este estudio, se observó un engrosamiento del epitelio pigmentario de la retina por debajo de la lesión submacular viteliforme nubosa, consistente con la infiltración subepitelial del epitelio pigmentario de la retina. Se desconoce cómo se disuelve el material viteliforme nuboso a pesar de que, en la mayoría de los casos, la enfermedad infiltrante sigue en curso. Dado que hay una disminución correspondiente en el engrosamiento del epitelio pigmentario de la retina, se podría suponer que con la disminución de la infiltración del epitelio pigmentario de la retina, la relación entre el epitelio pigmentario de la retina viable y el epitelio pigmentario de la retina disfuncional alcanza un estado de equilibrio en el que la acumulación de restos metabólicos en el material turbio y la reabsorción por el epitelio pigmentario de la retina funcional restante alcanzan el equilibrio. Destacar que la resolución de la submaculopatía paraneoplásica viteliforme no equivale a la regresión del linfoma y que debe continuarse la vigilancia estrecha de la retina periférica para detectar la aparición de nuevos infiltrados retinianos o subepiteliales del epitelio pigmentario de la retina.

El ejemplo claro de la necesidad de conocer esta forma de presentación paraneoplásica del linfoma cerebral primario o de linfoma ocular primario acudió a nuestra consulta unos meses más tarde. Un segundo paciente, con alteraciones hiperrefringentes y viteliformes del epitelio pigmentario de la retina, con cambios en el carácter como sintomatología sistémica, fue sometido a un estudio de resonancia magnética cerebral que reveló una lesión parenquimatosa. La lesión se biopsió, llegando al diagnóstico de linfoma cerebral primario y dando la oportunidad de realizar un tratamiento precoz.

DISCUSIÓN

La maculopatía viteliforme nubosa recurrente ha sido descrita como presentación inicial de linfoma primario vitreorretiniano, que puede derivar de un linfoma primario del sistema nervioso central o derivar en linfoma secundario del sistema nervioso central. El linfoma vitreorretiniano primario (que se describía en su origen como sarcoma de células reticulares del ojo y ahora se denomina linfoma vitreorretiniano primario), es una subtipo raro pero maligno del linfoma no-Hodgkin que se puede manifestar en el vítreo, en la retina o en ambos. El linfoma vitreorretiniano primario es el subtipo más frecuente de linfoma intraocular, además del más agresivo, que generalmente se clasifica como un linfoma difuso de células grandes B (aunque el linfoma de células T es infrecuente, puede ocurrir). Entre los elementos del diagnóstico diferencial cabe incluir los linfomas uveales y los linfomas coroides, dado que sus asociaciones sistémicas varían así como las implicaciones clínicas. Un alto porcentaje de estos pacientes desarrollan linfoma cerebral que pone en riesgo su vida, por lo que esta presentación inicial supone un reto diagnóstico y su correcta identificación a nivel de la retina es de gran relevancia para la supervivencia del paciente.

El linfoma primario vitreorretiniano ocurre en pacientes ancianos, con una media de edad de 60 años y suele ser fatal en último término por la afectación del cerebro, resultando en una supervivencia media de 32 meses. Por tanto, el diagnóstico precoz de estos tipos de linfoma es primordial aunque frecuentemente

enmascarado por una uveítis, una vitritis o una retinitis. Dentro de las características que diferencian a un linfoma primario vitreoretiniano o a un linfoma primario del sistema nervioso central podemos incluir: células vítreas más grandes de lo habitual y engrosadas, infiltración blanco- amarillenta de la retina o debajo del epitelio pigmentario de la retina. El término pseudoviteliforme se han usado y se usan en la literatura para referirse a la distrofia macular pseudoviteliforme adquirida, que no debemos confundir con la lesión viteliforme de la distrofia viteliforme de Best. En las últimas publicaciones, las lesiones viteliformes- entendiendo como tales las concreciones subretinianas de material amarillento e hiperfluorescente sobre la banda de epitelio pigmentario de la retina y dentro de la región macular, sin pertenecer al subtipo de lesiones viteliformes maculares adquiridas- se han descrito asociadas a una gran variedad de condiciones y enfermedades: drusas cuticulares, pseudodrusas reticulares, desprendimiento seroso del epitelio pigmentario, pseudoxantoma elástico con estrías angioides, tracciones vitreomaculares, coriorretinopatía serosa central, gammapatías monoclonales y maculopatía polimorfa viteliforme aguda y paraneoplásica.

Este subtipo de alteración ocular no es el más frecuente. Además, hay otros signos oculares que se pueden apreciar cuando tenemos un linfoma del sistema nervioso central y también nos podrían poner sobre aviso de un linfoma primario del sistema nervioso central, probablemente también perteneciente a los subtipos de linfoma difuso de células grandes B, o de un linfoma ocular primario. Inicialmente los pacientes con linfoma primario intraocular son pacientes ancianos que acuden a consulta con visión borrosa y midesopsias. Al examen oftalmológico podemos apreciar un infiltrado celular en vítreo, con o sin la presencia de infiltrados subretinianos. La evaluación diagnóstica del linfoma primario intraocular incluye la neuroimagen, el examen citológico del líquido cefalorraquídeo y una vitrectomía diagnóstica con manejo especial de la muestra vítrea, si las anteriores no son diagnósticas. Los análisis moleculares y de citoquinas son útiles como complemento de la citología para el diagnóstico de linfoma extraocular primario. Recientes estudios moleculares que demuestran la presencia de ADN viral en las células del

linfoma ocular sugieren un papel de los agentes infecciosos en la patogénesis del linfoma primario intraocular. Hasta la fecha, el mejor modo de tratamiento del linfoma primario intraocular o del linfoma primario recurrente del sistema nervioso central que afecta sólo a los ojos sigue sin estar definido.

Además de la sintomatología ocular y las imágenes que podemos encontrar en tomografía óptica computarizada y en las imágenes de resonancia cerebral, hay otros marcadores del linfoma primario del sistema nervioso central que nos pueden ayudar a identificarlo o a sospecharlo. Se considera que la neopterina, la interleucina-6 o la interleucina-10 y el micro-ARN desempeñan un papel en el diagnóstico del linfoma primario del sistema nervioso central, con una sensibilidad y especificidad relativamente altas. Sin embargo, su aparición en muchas otras enfermedades hace que la posibilidad de falsos positivos sea elevada, lo cual hay que tener en cuenta a la hora de proponer estos análisis. La interleucina-6 es un potente factor inflamatorio pluripotente producido por las células que promueve el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos y es secretado por diversas células, como los linfocitos B benignos y malignos, los monocitos, los macrófagos, los fibroblastos y los hepatocitos. En algunos estudios se descubrió que una línea celular primaria de linfoma de células B producía interleucina-6 incluso de forma autocrina, promoviendo la maduración de las células B secretoras en células plasmáticas que producen anticuerpos. En el linfoma no-Hodgkin, la interleucina-10 desempeña un papel central en el crecimiento de los linfocitos B y los factores quimiotácticos, y puede inducir a las células a liberar inmunoglobulinas, un hecho que ha demostrado estar asociado con la aparición y el pronóstico de las neoplasias linfoides. La interleucina-10 es secretada por las células auxiliares de tipo 2, los monocitos, los macrófagos y los linfocitos B en los tejidos linfoides normales y malignos, lo que promueve el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos, y activa las células B para que liberen inmunoglobulina. Se considera que la interleucina-10 es la citoquina inmunosupresora o antiinflamatoria más potente, y desempeña una serie de funciones en el desarrollo y la progresión del linfoma. Los niveles de IL-6 e IL-10 en el linfoma primario del sistema nervioso central fueron más altos que los de otros

tumores cerebrales. Se ha demostrado que la IL-6 y la IL-10 están relacionadas con la aparición y el pronóstico de las neoplasias linfoides. El nivel de IL-10 en el líquido cefalorraquídeo tiene una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico del linfoma primario del sistema nervioso central. Teniendo en cuenta las propiedades antiinflamatorias de la IL-10, un nivel continuamente alto de IL-10 en el líquido cefalorraquídeo puede desencadenar una activación inmunitaria relativamente fuerte, promover la proliferación celular e inhibir la apoptosis celular. Se puede decir que es producida por las células tumorales, y que cuanto mayor sea el nivel de IL-10 del LCR, mayor será la carga tumoral, menor será la puntuación del KPS y peor será el pronóstico. Sirve como un predictor independiente para el pronóstico que se asocia estrechamente con la mala supervivencia de los pacientes con linfoma primario del sistema nervioso central.

Dado que los hallazgos oculares son inespecíficos, a la mayoría de los pacientes con linfoma primario intraocular se les diagnostica inicialmente de una uveítis crónica después de un examen sin resultados de causas de uveítis no infecciosas e infecciosas con características similares. Estas entidades incluyen la sarcoidosis, la uveítis intermedia del subtipo de la pars planitis, la coroiditis multifocal, la epiteliopatía pigmentaria placode posterior multifocal aguda, la coriorretinopatía en forma de perdigones, la toxoplasmosis, la tuberculosis ocular y la necrosis retiniana aguda. Inicialmente, la mayoría de los pacientes mejoran con el inicio de los corticosteroides. En última instancia, la enfermedad se vuelve resistente al tratamiento antiinflamatorio o el paciente desarrolla una enfermedad del SNC y se busca una evaluación adicional. El tiempo medio transcurrido desde la aparición de los síntomas oculares hasta el diagnóstico de la PIOL es de 21,4 meses (1-132 meses).

La realización de la tomografía de coherencia óptica, prueba que en la mayoría de centros realiza el equipo de enfermería, es fundamental en estos casos para un diagnóstico precoz. Destacamos la labor y la formación del equipo de enfermeros, que son quienes tienen el primer contacto con el paciente y también le ven y le valoran en las sucesivas revisiones. Sus habilidades para realizar estas pruebas ayudan al reconocimiento

de patologías retinianas, apoyando y complementando el trabajo del retinólogo.

CONCLUSIONES

La submaculopatía viteliforme y nubosa es una forma de retinopatía asociada a linfoma. Puede preceder al diagnóstico de linfoma primario del sistema nervioso central o al linfoma primario vitreoretiniano. Puede regresar espontáneamente, dejando alteraciones retinianas pero también revierte con el tratamiento del linfoma primario. Es importante recordar e incluir el síndrome paraneoplásico de la submaculopatía viteliforme nubosa en el diagnóstico diferencial cuando apreciemos alteraciones hiperrefringentes viteliformes del epitelio pigmentario de la retina, engrosamiento del mismo o aspecto granular. El reconocimiento de esta presentación atípica de linfoma es determinante para iniciar un tratamiento adecuado y mejorar la supervivencia.

Diagnóstico genético de pacientes con distrofias hereditarias de la retina mediante secuenciación del exoma clínico.

Pilar Barberán-Martínez, Belén García-Bohórquez,
Alba Berzal-Serrano, Cinta Navarro-Moreno, Elena
Aller, Gema García-García.

INTRODUCCIÓN

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) son un grupo de enfermedades raras caracterizadas, generalmente, por la muerte progresiva de fotorreceptores, dando lugar a una pérdida de visión y en muchos pacientes a ceguera legal. La DHR más común es la Retinosis Pigmentaria (RP), un tipo de distrofia de bastones que constituye entre el 85-90% de DHR (1).

Las DHR se caracterizan por su elevada heterogeneidad clínica y genética. Existen formas de DHR tanto sindrómicas como no sindrómicas, siendo la mayor parte de este último tipo. Todas ellas, presentan un tipo de herencia mendeliana aunque se han descrito otros tipos como herencia digénica (2). Además, dentro del tipo de herencia mendeliana, puede haber formas autosómicas dominante (AD), autosómicas recesivas (AR) y ligadas al cromosoma X (XL). Actualmente se conocen 281 genes implicados en algún tipo de DHR (<https://web.sph.uth.edu/RetNet/sum-dis.htm#A-genes>) y gran parte de ellos puede causar más de un tipo de DHR, tanto de forma dominante como recesiva. A su vez, una misma DHR puede estar causada por más de un gen. Finalmente, señalar que a parte de este solapamiento genético también existe un solapamiento clínico dependiente de la progresión de la enfermedad y del tipo de fotorreceptor afectado al inicio de la enfermedad (3, 4).

Esta heterogeneidad genética de las DHR dificulta el diagnóstico genético de los pacientes. Existen diferentes estrategias de secuenciación de nueva generación (NGS del inglés Next Generation Sequencing) (5) para realizar dicho diagnóstico, como son el panel de genes o el exoma clínico. La secuenciación dirigida o panel de

genes, consiste en la secuenciación de genes que son de nuestro interés, en este caso, los relacionados con DHR. Esta estrategia, tiene la ventaja que permite incluir regiones no codificantes, como las regiones intrónicas en las que previamente se han descrito mutaciones causantes de la enfermedad. Sin embargo, tiene la necesidad de una actualización periódica de los genes incluidos debido al aumento del número de genes implicados en DHR (6, 7). Por otro lado, la secuenciación del exoma clínico consiste en la secuenciación de la región codificante de los genes relacionados con enfermedades hereditarias (≈ 6000 genes), por lo que al no ser un diseño personalizado no requiere una actualización continua. Además, como incluye genes relacionados con otras patologías puede emplearse para el diagnóstico genético de otras enfermedades (8, 9).

Por ello, el objetivo de este trabajo es el diagnóstico genético de 52 pacientes con distrofia hereditaria de retina mediante la secuenciación del exoma clínico. Con la finalidad de que los pacientes puedan tener la confirmación de la sospecha clínica, el pronóstico de su enfermedad, un correcto asesoramiento genético y la posible inclusión en ensayos clínicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Elección de la cohorte

Se han incluido 52 pacientes diagnosticados clínicamente de algún tipo de DHR. Se obtuvieron muestras de sangre periférica de todos los pacientes para la extracción de ADN mediante el extractor automático QIAasympyphony (QIAGEN). Todos los pacientes incluidos fueron informados del estudio y firmaron el correspondiente consentimiento informado.

Secuenciación del exoma clínico

Se ha realizado la secuenciación del exoma clínico “Custom Constitutional Panel 17MB” de 52 pacientes con DHR. La preparación de las librerías se realizó con el protocolo SureSelect XT HS (Agilent) y la secuenciación en la plataforma NextSeq 500/550 *Illumina*.

Análisis de datos

El análisis bioinformático de las secuencias obtenidas se realizó con el programa Alissa (Agilent). En este, se realizó el alineamiento, anotación y filtrado de las variantes. El filtrado de las variantes se llevó a cabo como se indica en el esquema de la Figura 1. Incluyó filtros relacionados con bases de datos, la frecuencia alélica y genómica y un panel de genes que incluía 255 genes relacionados con DHR (Tabla 1).

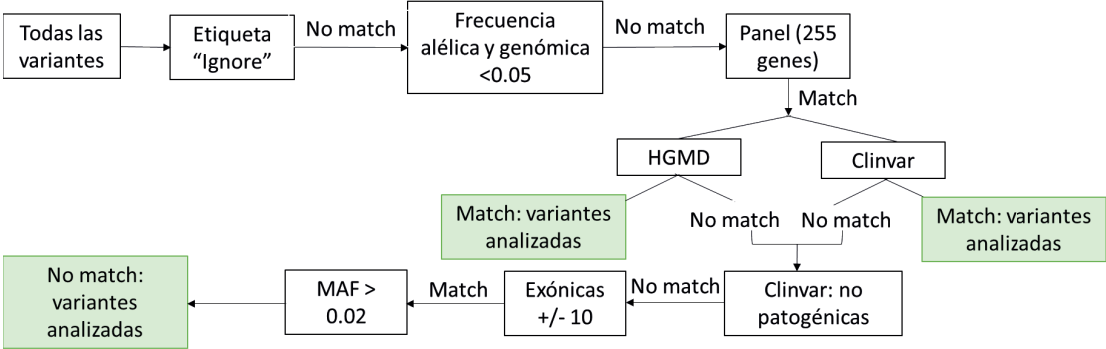


Figura 1. Esquema del filtrado de las variantes realizado en el programa Alissa. Match: variantes que han pasado el filtro; No match: variantes que no han pasado el filtro; En verde: variantes que fueron analizadas.

Tabla 1. Genes estudiados al realizar el análisis de las variantes obtenidas en los exomas clínicos de los pacientes de la cohorte.

Genes estudiados							
ABCA4	CIQTNF5	CRB1	HGSNAT	MFRP	PDE6A	RCBTB1	TEAD1
ABCC6	CFAP410	CRX	HK1	MFSD8	PDE6B	RD3	TIMM8A
ABHD12	PCARE	CSPP1	HMCN1	MIR204	PDE6C	RDH11	TIMP3
ACBD5	C8orf37	CTNNA1	HMX1	MKKS	PDE6G	RDH12	TMEM126A
ACO2	CA4	CYP4V2	IDH3B	MKSI	PDE6H	RDH5	TMEM216
ADAM9	CABP4	DHDDS	IFT140	MTTP	PDZD7	REEP6	TMEM237
ADAMTS18	CACNA1F	DHX38	IFT172	MVK	PEX1	RGR	TOPORS
ADGRA3	CACNA2D4	DMD	IFT27	MYO7A	PEX2	RGS9	TREX1
ADGRV1	CAPN5	DRAM2	IFT81	NBAS	PEX7	RGS9BP	TRIM32
ADIPOR1	CC2D2A	DTHD1	IMPDH1	NDP	PGKI	RHO	TRNT1
AFG3L2	CDH23	DYNC2H1	IMPG1	NEK2	PHYH	RIMS1	TRPM1
AGBL5	CDH3	EFEMP1	IMPG2	NEUROD1	PITPNM3	RLBP1	TSPAN12

<i>AHI1</i>	<i>CDHR1</i>	<i>ELOVL4</i>	<i>INPP5E</i>	<i>NMNAT1</i>	<i>PLA2G5</i>	<i>ROM1</i>	<i>TTC8</i>
<i>AHR</i>	<i>CEP164</i>	<i>EMC1</i>	<i>INVS</i>	<i>NPHP1</i>	<i>PLK4</i>	<i>RP1</i>	<i>TTL5</i>
<i>AIPL1</i>	<i>CEP19</i>	<i>ESPN</i>	<i>IQCB1</i>	<i>NPHP3</i>	<i>PNPLA6</i>	<i>RP1L1</i>	<i>TTPA</i>
<i>ALMS1</i>	<i>CEP250</i>	<i>EYS</i>	<i>ITM2B</i>	<i>NPHP4</i>	<i>POC1B</i>	<i>RP2</i>	<i>TUB</i>
<i>ARL2BP</i>	<i>CEP290</i>	<i>FAM161A</i>	<i>JAG1</i>	<i>NR2E3</i>	<i>POMGNT1</i>	<i>RP9</i>	<i>TUBGCP4</i>
<i>ARL6</i>	<i>CEP78</i>	<i>FLVCR1</i>	<i>KCNJ13</i>	<i>NR2F1</i>	<i>PRCD</i>	<i>RPE65</i>	<i>TUBGCP6</i>
<i>ARSG</i>	<i>CERKL</i>	<i>FSCN2</i>	<i>KCNV2</i>	<i>NRL</i>	<i>PROM1</i>	<i>RPGR</i>	<i>TULP1</i>
<i>ATF6</i>	<i>CFH</i>	<i>FZD4</i>	<i>KIAA1549</i>	<i>NYX</i>	<i>PROS1</i>	<i>RPGRIP1</i>	<i>UNC119</i>
<i>ATXN7</i>	<i>CHM</i>	<i>GDF6</i>	<i>KIF11</i>	<i>OAT</i>	<i>PRPF3</i>	<i>RPGRIP1L</i>	<i>USH1C</i>
<i>BBIP1</i>	<i>CIB2</i>	<i>GNAT1</i>	<i>KIZ</i>	<i>OFD1</i>	<i>PRPF31</i>	<i>RS1</i>	<i>USH1G</i>
<i>BBS1</i>	<i>CLN3</i>	<i>GNAT2</i>	<i>KLHL7</i>	<i>OPA1</i>	<i>PRPF4</i>	<i>RTN4IP1</i>	<i>USH2A</i>
<i>BBS10</i>	<i>CLRN1</i>	<i>GNB3</i>	<i>LAMA1</i>	<i>OPA3</i>	<i>PRPF6</i>	<i>SAG</i>	<i>VCAN</i>
<i>BBS12</i>	<i>CNGA1</i>	<i>GNPTG</i>	<i>LCA5</i>	<i>OPN1LW</i>	<i>PRPF8</i>	<i>SDCCAG8</i>	<i>WDPCP</i>
<i>BBS2</i>	<i>CNGA3</i>	<i>GPR179</i>	<i>LRAT</i>	<i>OPN1MW</i>	<i>PRPH2</i>	<i>SEMA4A</i>	<i>WDR19</i>
<i>BBS4</i>	<i>CNGB1</i>	<i>GRK1</i>	<i>LRIT3</i>	<i>OPN1SW</i>	<i>PRPS1</i>	<i>SLC24A1</i>	<i>WFS1</i>
<i>BBS5</i>	<i>CNGB3</i>	<i>GRM6</i>	<i>LRP5</i>	<i>OTX2</i>	<i>RAB28</i>	<i>SLC25A46</i>	<i>WHRN</i>
<i>BBS7</i>	<i>CNNM4</i>	<i>GUCA1A</i>	<i>LZTFL1</i>	<i>PANK2</i>	<i>RAX2</i>	<i>SLC4A7</i>	<i>ZNF408</i>
<i>BBS9</i>	<i>COL11A1</i>	<i>GUCA1B</i>	<i>MAK</i>	<i>PAX2</i>	<i>RB1</i>	<i>SLC7A14</i>	<i>ZNF423</i>
<i>BEST1</i>	<i>COL2A1</i>	<i>GUCY2D</i>	<i>MERTK</i>	<i>PCDH15</i>	<i>RBP3</i>	<i>SNRNP200</i>	<i>ZNF513</i>
<i>C12orf</i>	<i>COL9A1</i>	<i>HARS</i>	<i>MFN2</i>	<i>PCYT1A</i>	<i>RBP4</i>	<i>SPATA7</i>	

La posible patogenicidad de las variantes que pasaron los filtros se valoró mediante el uso de predictores *in silico* incluidos en Mobidetails, Varsome, Franklin y en el anotador del programa Alissa. Además, se valoró el posible efecto de las variantes en el proceso del splicing mediante los predictores MaxEnt, SpliceAI, VarSEAK y NNSplice. Las variantes también se consultaron en las bases de datos GenomAD, Clinvar, 1000 Genomes, HGMD y LOVD. Finalmente, se clasificaron según los criterios de la *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (10).

Validación de las variantes

Las variantes probablemente patogénicas y patogénicas según los criterios de la ACMG se validaron mediante secuenciación Sanger. Además, en los pacientes en los que solo se encontró una variante en los genes ABCA4 o USH2A (genes de herencia AR), se completó el estudio mediante la secuenciación Sanger

de las mutaciones patogénicas en regiones intrónicas profundas previamente descritas (6) (Tabla 2).

Tabla 2. Mutaciones intrónicas profundas secuenciadas mediante secuenciación Sanger. A. Mutaciones en ABCA4. B. Mutaciones en USH2A.

A.

<i>ABCA4</i> (NM_000350.3)				
c.769-784C>T	c.769-605T>C	c.1938-619A>G	c.859-506G>C	c.859-540C>G
c.2919-826T>A	c.3050+370C>T	c.4253+43G>A	c.4539+859C>T	c.4539+1100A>G
c.4539+2001G>A	c.5196+1216C>A	c.4539+2064C>T	c.4539+2065C>G	c.5196+1056A>G
c.5197-557G>T	c.1937+435C>G			

B.

<i>USH2A</i> (NM_206933.4)				
c.8845+628C>T	c.5573-834A>G	c.9959-4159A>G	c.14134-3169A>G	c.7595-2144A>G

Análisis de deleciones y/o duplicaciones

El análisis de los cambios en el número de copias (CNVs) se llevó a cabo con el programa DECoN (Detection of Exon Copy Number). La validación de las posibles CNVs se realizó mediante MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification, MRC Holland), siempre que el kit comercial estuviese disponible para el gen o región candidata. También se realizó MLPA en pacientes que solo presentaban una mutación en un gen de herencia AR siempre que el MLPA para ese gen estuviese disponible comercialmente.

Análisis funcional mediante minigen

Además, se llevó a cabo el análisis funcional mediante un ensayo de minigen para una variante en el gen ABCA4 que podría afectar el splicing pero que según las guías de la ACMG no se clasificaba como patogénica o probablemente patogénica pero los predictores del splicing aparecían alterados (MaxEnt, SpliceAI, VarSEAK y NNSplice).

Para llevar a cabo el minigen, se amplificó el exón en el que se localiza la variante de interés y las secuencias intrónicas

adyacentes a partir del ADN del paciente con cebadores específicos que contenían un sitio de restricción adicional XhoI y NheI. Para la amplificación se utilizó la polimerasa High Fidelity Phusion (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, EE. UU.). A continuación, se realizó la digestión del plásmido pSPL3 y del amplicón purificado utilizando las enzimas de restricción FastDigest XhoI y FastDigest NheI y el FastDigest Buffer (Thermo Fisher Scientific), siguiendo las indicaciones del fabricante. La digestión se purificó con el kit MinElute PCR Purification (QIAGEN, Düsseldorf, Germany). Seguidamente, el amplicón se insertó entre los sitios de restricción XhoI y NheI en el vector pSPL3 mediante la ADN ligasa T4 (Thermo Fisher Scientific) siguiendo las indicaciones del fabricante. Las células competentes de *Escherichia coli* se transformaron con la construcción del plásmido. La secuencia de cada minigen se verificó mediante secuenciación Sanger. Posteriormente, se transfectó 1 µg de las construcciones de tipo wt y mutante con los reactivos Lipofectamine™ 3000 (Thermo Fisher Scientific) en células HEK293 de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Los experimentos de transfección en células HEK293 se realizaron por duplicado. Pasadas 24 horas de la transfección, se recogieron las células y se aisló el ARN total mediante el kit RNeasy Mini (Qiagen, Hilden, Alemania). La síntesis de ADN complementario (ADNc) se llevó a cabo utilizando el kit de reactivos PrimeScript RT (TaKaRa, Kusatsu, Japón) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El ADNc se amplificó usando los cebadores específicos de pSPL3. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 1% y se secuenciaron en ambos sentidos por el método Sanger.

RESULTADOS

Mediante este estudio hemos conseguido identificar la causa genética de la DHR en 32 de los 52 pacientes, es decir, el 61.54%. De los restantes, en 10 no se observó ninguna mutación probablemente patogénica o patogénica (19.23%) y en 10 se identificó una mutación en genes de herencia AR (pacientes no concluyentes) (19.23%) (Figura 2).

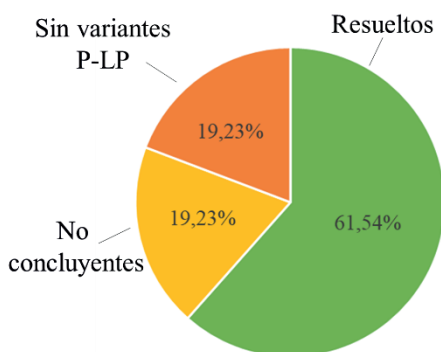


Figura 2. Porcentaje de casos resueltos (verde), no concluyentes (amarillo) y sin mutaciones patogénicas (P) o probablemente patogénicas (LP) (naranja).

Los pacientes se resolvieron con mutaciones en 24 genes, siendo los más frecuentes ABCA4 y USH2A. En cuanto al tipo de herencia, el 72% de los pacientes se resolvieron con mutaciones en genes de herencia AR, el 22% con genes de herencia AD y el 6% con herencia XL (Figura 3).

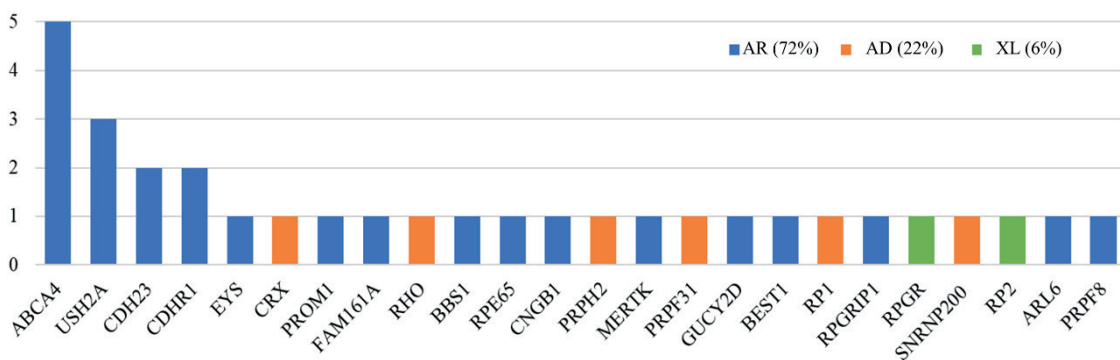


Figura 3. Número de pacientes resueltos con mutaciones en los diferentes genes causantes. AR: Herencia autosómica recesiva; AD: Herencia autosómica dominante; XL: Herencia ligada al X.

El 40,63% de los pacientes resueltos genéticamente (13 pacientes), también fueron portadores de otras mutaciones en genes de herencia AR. Estos genes están representados en la Figura 4 junto a los genes en los que se detectaron mutaciones en los pacientes no concluyentes.

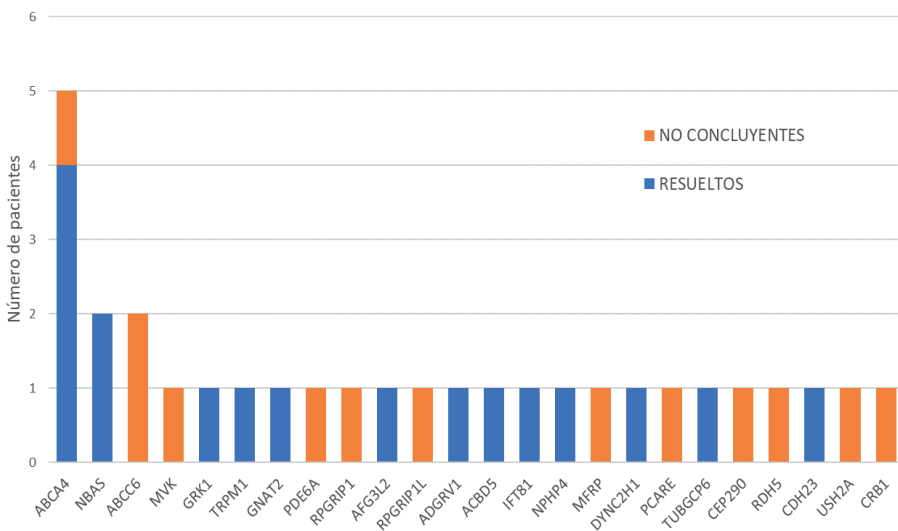


Figura 4. Genes de herencia autosómica recesiva donde solo se ha detectado una mutación tanto en pacientes no concluyentes (naranja) como resueltos genéticamente con variantes en otros genes (azul).

En total se detectaron 78 variantes probablemente patogénicas o patogénicas, incluyendo las variantes detectadas en los pacientes no concluyentes y en los resueltos tanto si son la causa, como si solo son portadores. En cuanto a la tipología de estas variantes: 40 (51%) fueron variantes que daban lugar a un cambio de aminoácido (*missense*); 14 (18%) producían un cambio en la pauta de lectura que más adelante generaba un codón de stop prematuro (*frameshift*); 13 (17%) creaban un codón de terminación prematuro en la posición de la variante (*nonsense*); 10 (13%) fueron intrónicas; y 1 (1%) variante fue una variante sinónima (Figura 5).

De las 78 variantes, 28 (35,9%) fueron nóveles y también presentaron una gran heterogeneidad: 6 (21,43%) fueron *missense*, 7 (25%) *frameshift*, 7 (25%) *nonsense*, 7 (25%) *intrónicas*; y 1 (3,57%) *sinónima* (Figura 5). Esta última variante, corresponde a una mutación en el gen ABCA4 presente en un paciente en el cual se identificó una mutación patogénica en el mismo gen. Esta variante a pesar de ser un cambio sinónimo, los predictores de splicing MaxEnt, SpliceAI, VarSEAK y NNSplice indicaban que el splicing podía ser aberrante. Realizamos el minigen de esta variante y observamos que el splicing estaba alterado tal y como se indicaba mediante los predictores mencionados.

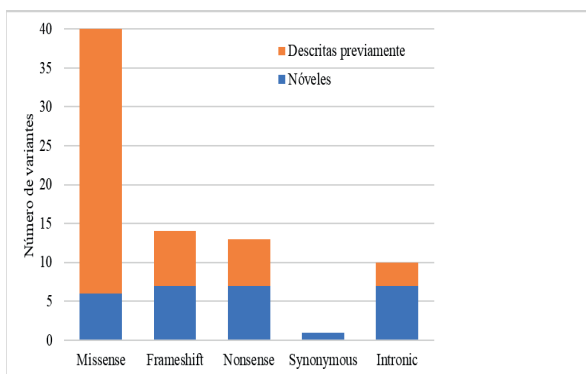


Figura 5. Tipología de las diferentes variantes patogénicas encontradas.

DISCUSIÓN

En este estudio se han diagnosticado genéticamente al 61,54% de los pacientes con DHR, porcentaje que está dentro del rango obtenido al realizar otras aproximaciones de NGS en la literatura. Tanto al realizar la secuenciación de un panel dirigido (6, 7) como del exoma completo (WES), la tasa de diagnóstico genético es de entre el 50% y el 70% (8, 9).

En cuanto a los pacientes resueltos genéticamente, uno de ellos presentó dos mutaciones en el gen RPE65, primer gen implicado en DHR para el que hay un tratamiento basado en terapia génica aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) (11). La mayor parte de los genes causantes en los pacientes resueltos presentaron un tipo de herencia AR (72%), al igual que se observa en otros estudios (6, 7, 9 y 12). Además, parte de estos pacientes (40,63%) fueron portadores de otras mutaciones en genes de herencia AR. Según la literatura, se estima que alrededor del 36% de la población mundial es portadora sana de al menos una mutación que puede causar DHR autosómica recesiva (13). Además, el hecho de que sean portadores de otras mutaciones patogénicas es de gran importancia en el diagnóstico genético a la hora de hacer consejo reproductivo. Señalar que el gen ABCA4 fue el gen más prevalente tanto en los genes causantes de la DHR como en genes portadores de mutaciones, hecho que coincide con la literatura (12 y 14).

En cuanto a los pacientes no concluyentes, es decir, portadores una mutación en genes de herencia AR, es posible que exista una segunda mutación en estos genes que no haya podido identificarse debido a que se encuentra en regiones no secuenciadas (intrones o regiones reguladoras) o a que la cobertura de la secuenciación de algunas zonas haya sido baja. O bien, que el paciente sea portador de estas variantes por azar y su distrofia de retina se deba a otra causa genética. Continuamente se describen nuevos genes como responsables de DHR. Por lo que estos pacientes, junto con los no resueltos, son candidatos a ser estudiados mediante otras técnicas que impliquen un mayor número de genes y regiones analizadas.

En total se identificaron 78 variantes patogénicas o probablemente patogénicas según la ACMG, de las cuales el 35,9% fueron nóveles. Además, las variantes observadas fueron de diferente tipología, hecho que evidencia la heterogeneidad genética de las DHR. El tipo de mutación predominante fue *missense*, al igual que se ha observado en otros estudios (6, 7 y 9).

A su vez, en este trabajo hemos podido emplear el estudio funcional de los minigenes para demostrar el efecto de una mutación en el gen ABCA4 sobre el splicing. La mayoría de genes implicados en las DHR como ABCA4 se expresan en la retina y otros tejidos de difícil acceso, lo que dificulta el acceso al ARN mensajero (ARNm) del paciente. Por lo tanto, en muchos casos para la confirmación del efecto de estas variantes sobre el splicing se realizan ensayos in vitro como son los minigenes (15).

En conclusión, la secuenciación del exoma clínico es una estrategia eficaz para el análisis molecular de enfermedades heterogéneas genéticamente, como son las DHR. Sin embargo, se requieren de análisis complementarios como la secuenciación de mutaciones intrónicas conocidas, MLPA o la realización de minigenes.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Proyecto PI19/00303 del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII; Ministerio de Ciencia

e Innovación) y por el Gobierno Regional de la Comunidad Valenciana (PROMETEU/2018/135), a su vez parcialmente financiados por la European Regional Development Fund (ERDF). PBM es beneficiaria de un contrato predoctoral FPU del Ministerio de Universidades de España (FPU20/04736). BGB y ABS son receptoras de un contrato predoctoral del Gobierno de la Comunidad Valenciana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ayuso, C. & Millan, J. M. Retinitis pigmentosa and allied conditions today: a paradigm of translational research. *Genome Med.* 2010; 2(5):34. Doi: 10.1186/gm155.
2. Liu, Y. P. et al. Putative digenic inheritance of heterozygous RP1L1 and C2orf71 null mutations in syndromic retinal dystrophy. *Ophthalmic Genetics.* 2017 Mar 4; 38(2):127–32. Doi: 10.3109/13816810.2016.1151898.
3. Hafler BP. CLINICAL PROGRESS IN INHERITED RETINAL DEGENERATIONS: GENE THERAPY CLINICAL TRIALS AND ADVANCES IN GENETIC SEQUENCING. *Retina.* 2017 Mar; 37(3):417–23. Doi: 10.1097/IAE.0000000000001341.
4. den Hollander, A. I., Black, A., Bennett, J. & Cremers, F. P. M. Lighting a candle in the dark: advances in genetics and gene therapy of recessive retinal dystrophies. *J Clin Invest.* 2010 Sep 1; 120(9):3042–53. Doi: 10.1172/JCI42258.
5. Hu, T., Chitnis, N., Monos, D. & Dinh, A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology.* 2021 Nov; 82(11):801–11. Doi: 10.1016/j.humimm.2021.02.012.
6. García Bohórquez, B. et al. Updating the Genetic Landscape of Inherited Retinal Dystrophies. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Jul 13; 9. Doi: 10.3389/fcell.2021.645600.
7. Rodríguez-Muñoz, A. et al. Expanding the Clinical and Molecular Heterogeneity of Nonsyndromic Inherited Retinal Dystrophies. *The Journal of Molecular Diagnostics.* 2020 Apr; 22(4):532–43. Doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.01.003.
8. Ma, D. J. et al. Whole-exome sequencing in 168 Korean patients with inherited retinal degeneration. *BMC Med Genomics.* 2021 Dec; 14(1):74. Doi: 10.1186/s12920-021-00874-6.

9. Riera, Marina, et al. 'Whole Exome Sequencing Using Ion Proton System Enables Reliable Genetic Diagnosis of Inherited Retinal Dystrophies'. *Sci Rep*. 2017 Feb; 7(1). Doi:10.1038/srep42078.
10. Richards, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 2015 May;17(5):405–24. Doi: 10.1038/gim.2015.30.
11. Russell, S. 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; 390(10097):849–60. Doi: 10.1016/S0140-6736(17)31868-8.
12. Jespersgaard, C. et al. Molecular genetic analysis using targeted NGS analysis of 677 individuals with retinal dystrophy. *Sci Rep*. 2019 Dec; 9(1):1219. Doi: 10.1038/s41598-018-38007-2.
13. Hanany, M. et al. 'Worldwide Carrier Frequency and Genetic Prevalence of Autosomal Recessive Inherited Retinal Diseases'. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020 Feb 4; 117(5):2710–6. Doi: 10.1073/pnas.1913179117.
14. McClard, C. K., Pollalis, D., Jamshidi, F., Kingsley, R. & Lee, S. Y. Utility of No-Charge Panel Genetic Testing for Inherited Retinal Diseases in a Real-World Clinical Setting. *Journal of VitreoRetinal Diseases*. 2022 Sep; 6(5):351–7. Doi: 10.1177/24741264221100936.
15. Rodriguez-Muñoz, A. et al. Functional assays of non-canonical splice-site variants in inherited retinal dystrophies genes. *Sci Rep*. 2022 Dec; 12(1):68. Doi: 10.1038/s41598-021-03925-1.

DIFERENCIAS ANATÓMICAS EN LA RETINA EN TRASTORNO DE DÉFICIT DE ATENCIÓN E HIPERACTIVIDAD

Carmen Miquel López, José Javier García Medina,
Manuel Almarcha Menargues, María Victoria Navarro
Abellán.

1. INTRODUCCIÓN

El TDAH, es un grupo de alteraciones del desarrollo neurológico, caracterizado por hiperactividad, impulsividad y/o inatención, que se presenta antes de los 7 años de edad, en más de un ambiente causando problemas importantes desde el punto de vista escolar, familiar o social.

Es el trastorno psiquiátrico más común en la infancia y el motivo más frecuente de consulta en los servicios de salud mental en niños. Su frecuencia es muy alta en los alumnos que tienen fracaso escolar y precisan de servicios de orientación pedagógica (1).

Datos recientes indican que la prevalencia del TDAH es de aproximadamente el 5% de los niños, rango de 2,2 a 12%, esa variación se debe a las diferencias en terminología, definición del síndrome y metodología a la hora de hacer el diagnóstico. Esa prevalencia tiende a subir progresivamente con los años.

Es más frecuente en varones, la relación niño:niña es de 4:1 para el tipo hiperactivo–impulsivo y de 2:1 para el tipo inatento (2).

1.1 ETIOLOGÍA

La causa principal de que un niño tenga TDAH es la **genética**.

Otras causas son:

- Bajo peso al nacer
- Adversidad psicosocial
- Consumo de tabaco o de alcohol por parte de la madre durante el embarazo (3).

i.LA INFLAMACIÓN EN EL TDAH

La etiopatogenia del TDAH es compleja y en parte, desconocida. Entre las causas se encuentran la activación glial, el daño y la degeneración neuronal, el aumento del estrés oxidativo, la reducción del soporte neurotrófico, la alteración del metabolismo de los neurotransmisores y la interrupción de la barrera hematoencefálica. Por ello se piensa que la inflamación juega un importante papel. Se ha observado una gran relación del TDAH con trastornos inflamatorios y autoinmunes (4).

Sin embargo, la evidencia de la participación de la inflamación en el TDAH aun es escasa.

Se ha demostrado una correlación del TDAH con trastornos inflamatorios en un gran número de sujetos, lo que sugiere una variedad de mecanismos subyacentes, como una respuesta inmunitaria alterada, genética y causas ambientales. Existe evidencia de que el aumento de la inflamación durante el desarrollo temprano puede ser un factor de riesgo para los síntomas del TDAH. Aunque los estudios genéticos han demostrado un papel potencial de la inflamación en este trastorno, no hay pruebas claras. En resumen, la inflamación puede ser un mecanismo importante en la fisiopatología del TDAH, pero aún se necesitan más estudios para una conclusión más precisa. (5)

ii.CAMBIOS ESTRUCTURALES EN EL CEREBRO Y NEUROINFLAMACIÓN EN TDAH

Durante la última década, ha habido un importante aumento en el número de estudios de neuroimagen del trastorno por déficit de atención/hiperactividad. En cuanto a la estructura del cerebro, la resonancia magnética nuclear (RMN) ha mostrado grandes diferencias.

Las anomalías en los ganglios basales, las estructuras prefrontales y el cuerpo calloso han sido los hallazgos más reportados en todos los estudios (6). Diversos trabajos han demostrado que en la corteza cerebral de la zona frontal (área prefrontal), donde se encuentra el área de atención que controla la memoria de trabajo, la atención y la inhibición de las respuestas, los grupos

de neuronas que la controlan son de menor tamaño y menor actividad funcional en niños con TDAH (7).

Se ha comprobado también en niños con TDAH que los niveles de dopamina y noradrenalina, neurotransmisores que comunican la zona prefrontal y los ganglios basales, están disminuidos, y ello provoca hiperactividad e impulsividad (8).

Se han visto también alteraciones en la circunvolución angular que explican que estos pacientes tengan problemas a nivel afectivo y en el manejo de sus emociones (9).

Es importante destacar que los estudios multimodales que combinan métodos estructurales y funcionales han mostrado una intercorrelación entre anomalías estructurales y funcionales en el TDAH. Se necesitan más estudios longitudinales para aclarar los efectos de la edad y la medicación en la estructura y función del cerebro en personas con TDAH (10).

Con base en lo anterior, se puede desarrollar una hipótesis de neuroinflamación para muchas formas de psicopatología del desarrollo de TDAH. Así, la neuroinflamación influye en el desarrollo del cerebro y, posteriormente, aumenta el riesgo de trastornos del neurodesarrollo al actuar a través de mecanismos que incluyen la activación glial (7), aumento del estrés oxidativo (10), desarrollo neuronal aberrante (11), apoyo neurotrópico reducido (12) y función neurotransmisora alterada (13).

1.2 LA RETINA COMO PARTE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: ESTUDIO MEDIANTE OCT.

La retina es una extensión del sistema nervioso central (SNC). Como tal, está compuesta por sustancia blanca (capas plexiformes y de fibras nerviosas de la retina) y sustancia gris (capas nucleares y ganglionares). Tiene una vascularización que deriva y pertenece a la vascularización cerebral, reflejando su estado (14). La retina posee la ventaja de ser la parte más accesible del SNC que puede ser explorada de forma no invasiva.

Histológicamente la retina se divide en 10 capas, desde la superficie interna (próxima al vítreo), a la externa (adyacente a la coroides) y son:

- Membrana limitante interna (MLI)
- Capa de fibras nerviosas retinianas (CFNR)
- Capa de células ganglionares (GCL)
- Capa plexiforme interna (CPI)
- Capa nuclear interna (CNI)
- Plexiforme externa (CPE)
- Capa nuclear externa (CNE)
- Membrana limitante externa (MLE)
- Segmentos internos y externos de los fotorreceptores
- Epitelio pigmentario retiniano (EPR)

En los últimos años se ha hecho posible la estimación de los grosores de las distintas capas en la retina con un método denominado tomografía de coherencia óptica (OCT)(15).

Este avance se ha podido aplicar al estudio de alteraciones neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple con resultados significativos, detectándose primordialmente adelgazamientos localizados de las diferentes capas de la retina (16).

1.3 DIAGNÓSTICO

Según el DSM-IV hay 5 criterios diagnósticos del TDAH y deben cumplirse todos para el diagnóstico.

-Criterio A: requiere 6 o más síntomas de la lista de HIPERACTIVIDAD-IMPULSIVIDAD, o de la lista de INATENCIÓN, que persisten más de 6 meses, incongruentes con su nivel de desarrollo.

-Criterio B: algunos síntomas están presentes antes de los 7 años, aunque el diagnóstico puede hacerse más tarde.

-Criterio C: algún problema debido a los síntomas que están presentes en dos o más ambientes (colegio, casa...)

-Criterio D: A parte de los síntomas, deben causar un impacto negativo a nivel social, académico u ocupacional.

-Criterio E: descartar otro tipo de problemas, que puedan enmascarar el diagnóstico (17).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Se plantea la siguiente hipótesis: identificar parámetros retinianos mediante la OCT estructural que pudieran ayudar a estudiar de forma más sencilla y rápida el grado de afectación del sujeto, por lo que permitiría un mejor diagnóstico con un tratamiento más precoz, resultando en mejor calidad de vida para el paciente.

- Objetivo primario:

Detectar biomarcadores de imagen retiniana mediante OCT en sujetos con TDAH comparándolos con sujetos normotípicos:

- Espesor de retina completa.

- Espesor de capas internas y externas de la retina individualmente.

- Objetivo secundario:

Además, estudiar selectivamente capas más concretas de la retina:

- Espesor de capa de células ganglionares de la retina.

- Espesor de capa de fibras nerviosas peripapilares.

3. MATERIAL Y MÉTODO

-Diseño:

Se trata de un estudio prospectivo, observacional, caso-control, en el que se compara un grupo de sujetos con TDAH con un grupo de sujetos normotípicos (controles), de similar edad y sexo.

-Sujetos del estudio:

Se seleccionaron sujetos con TDAH procedentes del Centro de Formación Integral “ADAH” cuyas siglas corresponden a Asociación de Ayuda al Déficit de Atención con más o menos Hiperactividad. Fue fundada en 1999 y actualmente dispone de seis sedes en la Comunidad de Murcia, en las localidades de

Cartagena, Murcia, Torre Pacheco, Alcantarilla, La Unión y Fuente Álamo. Ofrecimos información sobre el estudio y los sujetos interesados en participar se pusieron en contacto con nosotros.

Firmaron una hoja con información para el paciente, con una descripción general del estudio, beneficios y riesgos de la participación y confidencialidad. También firmaron un consentimiento informado.

Los pacientes fueron citados en consultas externas de oftalmología del Hospital General Universitario Morales Meseguer, donde se les realizó una exploración oftalmológica completa.

Los criterios de inclusión de los sujetos fueron los siguientes: raza caucásica, edad menor de 26 años, diagnóstico de TDAH, confirmado por al menos dos especialistas, error refractivo de menos de 6 dioptrías esféricas y 2,5 de cilindro, agudeza visual mejor corregida $\geq 0,5$, no presentar historia de patología ocular, no padecer otras enfermedades sistémicas que puedan alterar las medidas de la OCT y colaboración para realizar las pruebas y que puedan ser fiables.

Los criterios de inclusión de los controles son los mismos salvo el 3, además de no tener relación familiar con los sujetos TDAH de la muestra.

Todas las pruebas se realizan de acuerdo con la Declaración de Helsinki para la experimentación humana.

-Variables del estudio:

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les hizo una anamnesis general y exploración oftalmológica completa que permitiera cumplir los criterios de inclusión.

Además, se les realizó una prueba de refracción con el autorrefractómetro (Topcon KR 800). Se tomó la agudeza visual con el proyector de optotipos (Topcon ACP8) y se estudió la cámara anterior del ojo mediante lámpara de Hendidura (Carls Zeiss Meditec AG).



Figura 1. OCT Spectralis Heidelberg. Imagen obtenida de: <https://www.oftomed.cl/wp-content/uploads/2019/01/spectralis-hra-oct-1.jpg>

La SD-OCT (OCT de dominio espectral) estructural se realizó mediante el tomógrafo Spectralis (Spectralis versión 6.0, Heidelberg Engineering, (figura 1)), que presenta eye tracking (seguimiento ocular) para compensar los movimientos oculares.

Para el estudio de los espesores retinianos medios se estimaron en micras los sectores que corresponden al “Early Treatment Diabetic Retinopathy Study” (ETDRS) (Tabla 1 y figura 2A).

C0	Grosor retiniano medio en la celda del círculo central de la rejilla de medición (μm)
N1	Grosor retiniano medio en la celda nasal interna de la rejilla de medición (μm)
N2	Grosor retiniano medio en la celda nasal externa de la rejilla de medición (μm)
S1	Grosor retiniano medio en la celda superior interna de la rejilla de medición (μm)
S2	Grosor retiniano medio en la celda superior externa de la rejilla de medición (μm)
T1	Grosor retiniano medio en la celda temporal interna de la rejilla de medición (μm)
T2	Grosor retiniano medio en la celda temporal externa de la rejilla de medición (μm)
I1	Grosor retiniano medio en la celda inferior interna de la rejilla de medición (μm)
I2	Grosor retiniano medio en la celda inferior externa de la rejilla de medición (μm)

Tabla 1. Descripción de acrónimos ETDRS

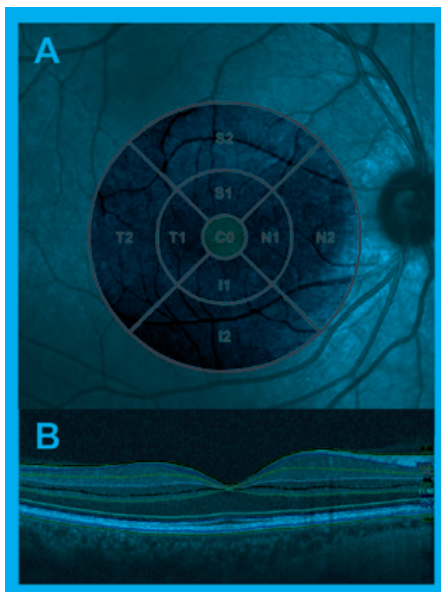


Figura 2. Examen macular. (A) Rejilla macular ETDRS. El espesor retiniano de todos los sectores (C0-foveal, S1, S2, N1, N2, T1, T2, I1 e I2) fue promediado para obtener valores de grosor macular. (B) Segmentación automática de las diferentes capas intrarretinianas en la mácula. (19)

Las capas se segmentaron automáticamente usando el prototipo software del dispositivo comercial (Tecnología de segmentación; Ingeniería de Heidelberg; Figura 2B). Las segmentaciones de la mácula que consideramos fueron las siguientes:

- Espesor de retina total. (Figura 3)

- Espesor de capas internas de la retina que incluyen: capa de fibras nerviosas (CFNR), capa de células ganglionares (GCL), capa plexiforme interna (IPL) y capa nuclear interna (INL), capa plexiforme externa (CPE) y capa nuclear externa (CNE) (Figura 4).

- Espesor de capas externas que integran la capa capa de fotorreceptores y el epitelio pigmentario de la retina (EPR). (Figura 5).

- Espesor de capa de células ganglionares individualmente (Figura 6)

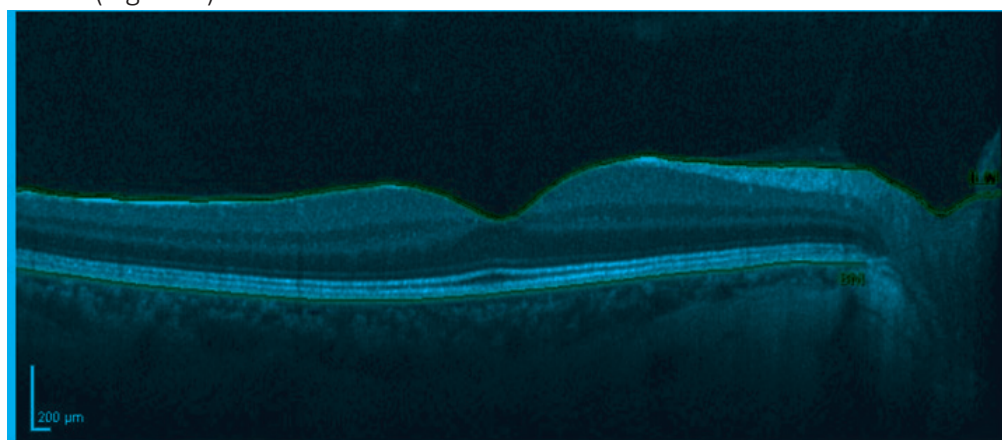


Figura 3. Segmentación del espesor de retina completa. Nótese los límites señalados en rojo.

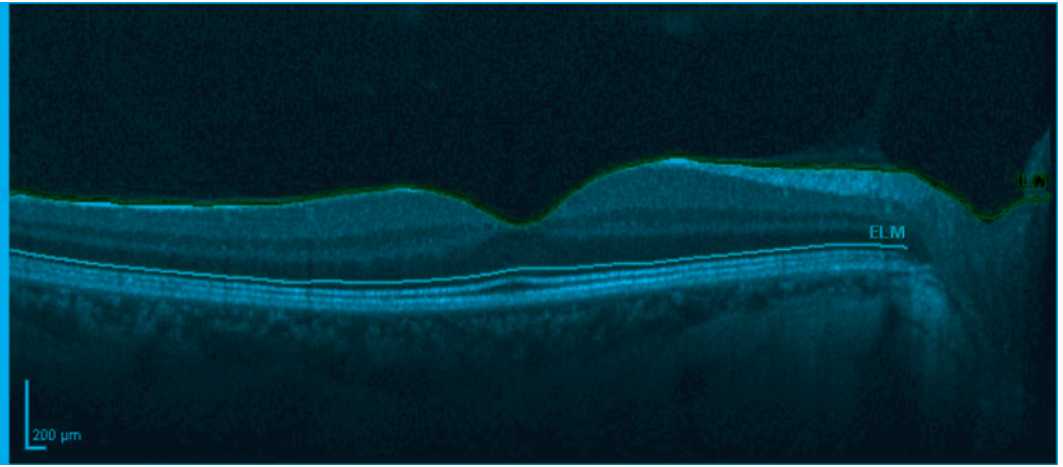


Figura 4. Segmentación de capas internas de la retina. Nótese los límites señalados en rojo.

En la exploración de la zona papilar realizamos la medición del espesor de la capa de fibras nerviosas peripapilares (pRNFL). Se estimó automáticamente en un círculo de 128 pulgadas de diámetro alrededor el disco óptico. Se establece una estrategia de ajuste fóvea-disco (sistema FoDI), donde aparece una la línea de referencia del haz papilomacular. Se considera que esta línea está en el medio del cuadrante temporal y, con esta referencia, se determinan los demás sectores por el dispositivo (Figura 2).

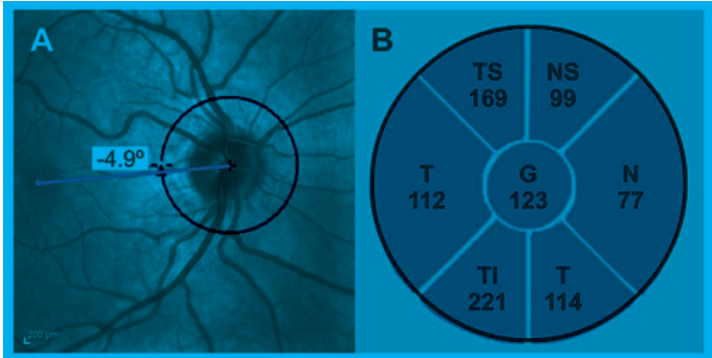


Figura 2. Examen peripapilar. (A) El espesor de la capa RNFL se estima automáticamente en un círculo alrededor del disco óptico, dividido en sectores. Se representa la línea de la fóvea al disco (línea azul). (B) Representación de los diferentes sectores obtenidos del dispositivo. Los sectores son: temporal (T), temporal superior (TS), temporal inferior (TI), nasal (N), nasal superior (NS) y nasal inferior (NI). Los valores globales (G) representan el espesor medio de todos los sectores. (19)

Todos los escaneos fueron revisados para excluir cualquier imagen con segmentación errónea, descentraciones de la rejilla

macular ETDRS o del círculo de pRNFL, fuerza de señal inferior o igual a 6, así como cualquier otro artefacto. Los escaneos se repitieron en tales casos.

-Selección de los controles neurotípicos:

Se seleccionan los controles (de similar edad y sexo que los casos), entre pacientes que han acudido a revisiones oftalmológicas en el Hospital General Universitario Morales Meseguer en Murcia en los últimos 2 años, y se les ofrece la participación en el estudio de manera voluntaria. Se les aporta la hoja de información y consentimiento informado del estudio y se realiza la misma exploración oftalmológica y pruebas de OCT.

-Análisis estadístico:

El análisis estadístico se realiza usando IBM SPSS v 25 (IBM Corp. Armonk. NY.USA).

Para describir las variables cualitativas se emplean frecuencias. Las variables cualitativas se compararon mediante el test exacto de Fisher. Estas variables se describen mediante la media y la desviación estándar. Las comparaciones entre grupos se llevaron a cabo mediante el test U de Mann-Whitney considerando por separado ojos derechos y ojos izquierdos. Se fijó un nivel de significación del 5%.

4.RESULTADOS

Se reclutó un total de 27 pacientes de los cuales, dos de ellos fueron excluidos por mala colaboración y uno por cumplir criterios de exclusión. Quedó una muestra constituida por 24 pacientes (48 ojos), siendo 14 sujetos con TDAH, de los cuales 10 eran varones (71,42%) y 4 mujeres (28,58%) y 10 controles, 8 varones (75%) y 2 mujeres (25%). Ambos grupos no difirieron ni en edad ($p=0,403$, test de Mann-Whitney), ni en sexo ($p=1$, test exacto de Fisher). Los datos demográficos fueron los siguientes (tabla 2).

Tabla 2. Descripción de características sociodemográficas. (SD, desviación estándar)

	TDAH	CONTROL	TOTAL
SUJETOS	14	10	24
OJOS	28	20	48
EDAD (años)			
-	Media + SD		
SEXO			
-	Hombres		
-	Mujeres		
17,28 + 5,13			
71,42 %			
28,58 %			
15,6 + 6,41			
80%			
20%			
16,44 + 5,77			
75%			
25%			

Se determinó la mejor agudeza visual corregida (MAVC), así como la refracción de cada uno de los sujetos, considerándose el equivalente esférico (EE). Además, se analizaron datos topográficos tales como la longitud axial (LA), profundidad de cámara anterior (CA) y la paquimetría tanto del ojo derecho (OD) como del ojo izquierdo (OI) (tabla 3 y 4).

Tabla 3. Descripción de características refractivas y topográficas de ojos derechos.

OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - W h i t n e y Test
M A V C (decimal)	0,95 + 0,1	1	0,04	0,40
EE (dioptrías)	-1,13 + 2	-1,57 + 2,8	-0,44	0,54
LA (mm)	23,78 + 1,35	24,07 + 1,43	0,28	0,43
CA (mm)	3,21 + 0,24	3,19 + 0,25	-0,01	0,84
PAQUIMETRÍA (μm)	538,14 + 41,75	540,6 + 39,81	2,45	0,91

Tabla 4. Descripción de características refractivas y topográficas de ojos izquierdos

OI	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - W h i t n e y Test
MAVC (decimal)	0,94 + 0,1	0,98 + 0,06	0,03	0,42
EE (dioptrías)	-1,08 + 2,25	-1,45 + 2,79	-0,36	0,47
LA (mm)	23,74 + 1,41	24,02 + 1,48	0,28	0,47
CA (mm)	3,17 + 0,23	3,22 + 0,22	0,04	0,62
PAQUIMETRÍA (μm)	543,64 + 39,69	539,6 + 40,46	-4,04	0,79

La MAVC se aproximaba a la unidad en la mayoría de sujetos, siendo el error refractivo más frecuente la miopía. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a EE, LA, profundidad de CA ni en la paquimetría, ni en ojos derechos ni en izquierdo.

A continuación, se estudió el espesor de la retina total en ambos ojos, analizando cada uno de los 9 sectores ETDRS descritos anteriormente. En todas ellas apreciamos una tendencia al adelgazamiento de las capas de la retina en pacientes TDAH respecto a sujetos control aunque sin significación estadística,

pero cercana a la misma en los sectores N1 e I1 del ojo izquierdo ($p < 0,1$). (tabla 5 y 6).

Tabla 5. Medida en micras (μm) de espesor de retina completa en ojos derechos (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

RETINA COMPLETA OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - Whitney Test
C0	280,5 + 13,5	280,8 + 21,17	0,3	0,84
N1	344,43 + 7,61	346,67 + 16,88	2,23	0,47
N2	319 + 12,54	329,89 + 16,69	10,88	0,14
S1	338,64 + 18,96	348 + 17,66	9,35	0,40
S2	301,57 + 13,7	306 + 12,64	4,42	0,51
T1	326,93 + 21,95	332,8 + 24,02	5,87	0,31
T2	283,9 + 28,29	289,36 + 14,13	5,54	0,50
I1	340,43 + 13,75	347,4 + 14,78	6,97	0,37
I2	289,86 + 12,70	299,7 + 19,99	9,84	0,34

Tabla 6. Medida en micras (μm) de espesor de retina completa en ojo izquierdo (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

RETINA COMPLETA OI	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	277,86 + 13,06	271 + 16,85	-6,85	0,21
N1	345,29 + 8,52	351,9 + 12,38	6,61	0,08
N2	318,71 + 13,26	326,56 + 13,16	7,84	0,25
S1	345,07 + 9,4	351,22 + 16,19	6,15	0,22
S2	301,93 + 11,44	308,78 + 10,81	6,84	0,12
T1	330,79 + 8,93	337,6 + 12,52	6,81	0,13
T2	283,21 + 9,74	286,67 + 10,17	3,45	0,36
I1	340,86 + 9,56	349,56 + 12,53	8,69	0,09
I2	292,21 + 13,5	295,78 + 13,19	3,56	0,33

Para un estudio más exhaustivo analizamos por separado las capas internas y capas externas de la retina. Al estudiar la capa interna de la retina, apreciamos una tendencia a la disminución en pacientes TDAH con respecto a los controles, a excepción de la zona foveal y nasal interna en ojo derecho y zona foveal en ojo izquierdo, siendo estas diferencias no estadísticamente significativas (tabla 7 y 8).

Tabla 7. Medida del espesor en micras (μm) de capas internas de la retina en ojo derecho (OD). (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C A P A S INTERNAS RETINA OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - Whitney Test
C0	194 + 16,27	193,1 + 22,34	-0,9	0,70
N1	262,21 + 7,88	263,11 + 17,45	-0,89	0,47
N2	239,71 + 12,15	249,56 + 15,97	9,84	0,20
S1	258 + 19	266,89 + 17,71	8,88	0,30
S2	220,93 + 11,9	226,11 + 12,70	5,18	0,33
T1	246,5 + 21,34	251,7 + 24,17	5,20	0,21
T2	205,8 + 24,71	210,29 + 13,58	4,48	0,66
I1	260,43 + 12,57	266,9 + 13,78	6,47	0,21
I2	212,64 + 11,77	222,1 + 18,99	9,45	0,27

Tabla 8. Medida del espesor en micras (μm) de capas internas de la retina ojo izquierdo (OI). (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C A P A S INTERNAS RETINA OI	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	189,9 + 12,67	184,33 + 16,28	-5,59	0,20
N1	263,07 + 8,29	267,67 + 12,25	4,60	0,10

N2	239,79 + 13,12	246,8 13,63	+	7,10	0,22
S1	264,71 + 8,76	270,11 16,35	+	5,39	0,25
S2	222,43 + 10,36	229,56 11,23	+	7,12	0,10
T1	250,86 + 8,85	256 + 12,7		5,14	0,20
T2	205,8 + 9,09	210 10,22	+	4,14	0,22
I1	260,93 + 9,46	269,67 12,6	+	8,73	0,06
I2	215,21 + 11,8	219,22 13,21	+	4,01	0,36

A continuación, analizamos el espesor de las capas externas de la retina, en este caso no se aprecia una clara tendencia de hacia el adelgazamiento o en engrosamiento de dichas capas en ningún ojo en TDAH. Los resultados tampoco son estadísticamente significativos (tabla 9 y 10).

Tabla 9. Medida del espesor en micras (μm) de capas externas de la retina ojo derecho (OD) (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C A P A S E X T E R N A S RETINA OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	88,83 + 3,21	87,67 + 3,46	-1,16	0,31
N1	83,08 + 1,78	82,11 + 2,08	-0,97	0,12
N2	79,58 + 2,61	79 + 2,17	-0,58	0,55

S1	80,83 + 1,69	81,56 + 3,53	+	0,72	0,70
S2	79,67 + 2,27	79,56 + 2,50	+	-0,11	0,97
T1	80,83 + 1,74	80,78 + 2,53	+	-0,05	0,81
T2	77,33 + 2,01	79 + 3,93		1,66	0,38
I1	80,17 + 1,85	80,33 + 2,59	+	0,167	1
I2	77,42 + 2,35	77,33 + 2,78	+	-0,08	0,75

Tabla 10. Medida del espesor en micras (μm) de capas externas de la retina ojo izquierdo (OI) (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C A P A S E X T E R N A S R E T I N A O I	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	86,86 + 3,71	87,78 + 2,94	0,92	0,68
N1	82,71 + 1,68	82,89 + 3,04	0,17	0,55
N2	79,64 + 2,59	79,22 + 2,43	-0,42	0,68
S1	80,57 + 2,4	80,33 + 2,23	-0,23	0,55
S2	80,93 + 6,12	79,33 + 2,91	-1,59	0,78
T1	79,64 + 1,82	80 + 2,06	0,35	0,78
T2	77,93 + 4,39	77,44 + 2,07	-0,48	0,78

I1	79,79 + 2,19	80 + 2,17	0,21	0,87
I2	76,86 + 2,17	78 + 3,04	1,14	0,33

Al analizar concretamente la capa de células ganglionares de ambos ojos, observamos que parece estar ligeramente aumentada en pacientes con TDAH en comparación con pacientes control. Estos resultados no son estadísticamente significativos (tabla 11 y 12).

Tabla 11. Medida de espesor en micras (μm) de la capa de células ganglionares en ojo derecho. (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C É L U L A S GANGLIONARES OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	17,17 + 4,93	16,22 + 3,38	-0,94	0,65
N1	52,92 + 4,62	53 + 2,39	0,08	0,70
N2	40,33 + 2,7	39,78 + 3,38	-0,55	0,60
S1	53,42 + 5,24	51,89 + 6,43	-1,52	0,60
S2	36,83 + 2,82	36,22 + 3,27	-0,611	0,65
T1	49,58 + 5,33	49,44 + 1,94	-0,13	0,91
T2	34,58 + 4,29	35,67 + 2,59	1,08	0,65
I1	54,25 + 3,86	54,78 + 2,58	0,52	0,50

I2	34,83 + 3,32	34,78 + 5,31	-0,05	0,97
----	-----------------	-----------------	-------	------

Tabla 12. Medida de espesor en micras (μm) de la capa de células ganglionares en ojo izquierdo (C0, zona foveal, N1 nasal interno, N2 nasal externo, S1 superior interno, S2 superior externo, T1 temporal interno, T2 temporal externo, I1 inferior interno e I2 inferior externo).

C É L U L A S GANGLIONARES OI	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	Mann- Whitney Test
C0	18,57 + 8,21	17,22 + 4,68	-1,34	0,82
N1	52,79 + 4,62	49,22 + 6,85	-3,56	0,51
N2	40,93 + 5,01	40,89 + 4,62	-0,04	0,92
S1	54,71 + 6,75	52,78 + 3,56	-1,93	0,22
S2	36,07 + 3,75	36 + 3,2	-0,07	0,87
T1	50,07 + 9,08	49,11 + 2,4	-0,96	0,25
T2	35,86 + 6,03	34,78 + 5,19	-1,08	0,43
I1	54,43 + 4,79	53,67 + 3,20	-0,76	0,68
I2	34,14 + 2,87	36,56 + 4,41	2,41	0,17

Además, estudiamos la capa de fibras nerviosas a nivel peripapilar donde observamos claras diferencias de espesor, presentando los pacientes con TDAH un menor grosor de la capa de fibras nerviosas peripapilares que los sujetos control en todos los sectores de ambos ojos, rozando la significación estadística en los sectores T y TI del ojo derecho ($p < 0,1$) (tabla 13 y 14).

Tabla 13. Medida de espesor en micras (μm) de la capa de fibras nerviosas peripapilares en ojos derechos (G, global, T, temporal, TS, temporal superior, TI, temporal inferior, N, nasal, NS, nasal superior, NI, nasal inferior)

p R N F L OD	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - W h i t n e y Test
G	87,79 + 11,81	92,8 + 13,01	5,01	0,15
T	62,64 + 10,6	68,90 + 6,08	6,25	0,06
TS	124,21 + 21,84	130,8 + 14,89	6,58	0,47
TI	129,79 + 15,34	143,4 + 19,64	13,61	0,09
N	70,86 + 14,69	76,10 + 17,57	5,24	0,21
NS	101,36 + 31,23	97,7 + 28,99	-3,65	0,75
NI	98,36 + 25,61	99,4 + 25,47	1,04	0,79

Tabla 14 Medida de espesor en micras (μm) de la capa de fibras nerviosas peripapilares en ojos izquierdos (G, global, T, temporal, TS, temporal superior, TI, temporal inferior, N, nasal, NS, nasal superior, NI, nasal inferior)

pRNFL OI	TDAH	CONTROL	Diferencia de medias	M a n n - W h i t n e y Test
G	86,5 + 14,83	90,30 + 19,67	3,8	0,66
T	61,07 + 13,1	66,5 + 8,08	5,42	0,34
TS	111,79 + 30,70	129 + 20,02	17,21	0,13

TI	133,21 + 23,68	144,3 + 30,21	11,08	0,34
N	71,14 + 19,87	72,6 + 19,39	1,45	0,75
NS	98,36 + 25	100,2 + 33,1	1,84	0,58
NI	91,07 + 19,16	91,8 + 39,58	0,73	0,88

5.DISCUSIÓN

El trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH), es el trastorno más frecuente en la infancia y el motivo más frecuente de consulta en los servicios de salud mental en niños.

Es el problema psiquiátrico más importante de todos los que afectan a los niños en edad escolar. Es asimismo origen de problemas personales para el paciente, pero también para la familia, la escuela y para la sociedad. (3)

Su infradiagnóstico puede llevar a la aparición de complicaciones como: fracaso escolar, conductas negativas y desafiantes, abuso de drogas, accidentes... muchos niños con fracaso escolar y problemas de conducta pueden tener un TDAH sin tratar, por lo que es importante su detección precoz.

Todo lo anterior, unido al aumento progresivo de niños afectados de esta patología, ha hecho que se estén dedicando esfuerzos para desarrollar técnicas dirigidas a resolver o paliar el problema.

El conocimiento de nuevos biomarcadores del TDAH podría suponer un primer paso para la aplicación de nuevos enfoques diagnóstico-terapéuticos, que permitan un diagnóstico precoz y un tratamiento más inmediato, ya que cuanto más tiempo pase el niño con TDAH sin ser diagnosticado y tratado correctamente, mayor es la posibilidad de que aparezcan otros trastornos asociados.

Con este trabajo se analizan los parámetros estructurales de la retina mediante la OCT. La retina es una parte del SNC fácilmente accesible a su exploración. Con el auge de estas técnicas no

invasivas se pueden hacer fotografías de todas las capas de la retina.

Diversos estudios describen diferencias a nivel retiniano en pacientes con TDAH. En un estudio se documentó que el grosor macular central, los grosores RNFL y el complejo de células ganglionares eran significativamente menores en pacientes con TDAH. Se concluyó que el grosor de RNFL es menor porque los pacientes con TDAH tienen menor número de axones mielinizados. (20) Los resultados obtenidos sobre el grosor RNFL concuerdan con nuestro estudio, no siendo así en la capa de células ganglionares donde no observamos tendencia a la disminución.

En otro trabajo se vio que no había relación entre la reducción del grosor del RNFL en pacientes con TDAH y la gravedad de los síntomas y niveles de rendimiento de las pruebas ejecutivas (22).

Otro estudio concluye que el grosor de la coroides en pacientes pediátricos con TDAH es significativamente mayor que en controles. Estos hallazgos sugieren que las alteraciones del grosor coroideo pueden tener un papel potencial en la etiología subyacente del TDAH. (23)

La microcirculación retiniana y los vasos cerebrales están estrechamente asociados ya que tienen el mismo origen embriológico y las mismas características estructurales y funcionales (24), por ello podría ser una ventana abierta a nuevas investigaciones mediante el uso de la OCTa.

6.CONCLUSIONES

1.Al analizar el espesor de retina completa y el espesor de las capas retinianas internas apreciamos una tendencia al adelgazamiento de las capas de la retina en pacientes TDAH respecto a sujetos control.

2.En cambio, en el espesor de las capas externas de la retina, no se aprecia una clara tendencia hacia el adelgazamiento o engrosamiento en TDAH.

3.En cuanto a la capa de células ganglionares de ambos ojos, observamos que parece estar ligeramente aumentada en pacientes con TDAH en comparación con pacientes control.

4.Finalmente, la capa de fibras nerviosas de la retina a nivel peripapilar parecen tener tendencia al adelgazamiento en el TDAH.

BIBLIOGRAFÍA

1.Jorge Ferré V. Los trastornos de la atención y la hiperactividad. Diagnóstico y tratamiento neurofuncional y casual. 2º edición, Barcelona, Lebon, 2002.

2.Cerrillo-Urbina JA, García-Hermoso A, Martínez-Vizcaíno V, et al. Prevalence of probable Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder symptoms: result from a Spanish sample of children. BMC Pediatrics. 2018;18 (11): 222-234.

3.Soutullo, Díez. Manual de diagnóstico y tratamiento del TDAH. Madrid. Editorial Panamericana, 2007.

4.Leffa D, Torres I, Rohde L. A Review on the Role of Inflammation in Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder, Epub 2018; 25 (5-6): 328-333.

5.Jane Pei-Chen Changm Kuan-Pin Su, Valeria Mondelli. Cortisol and inflammatory biomarker levels in youths with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): evidence from a systematic review with meta-analysis. Translational Psychiatry, 2021;11 (8): 430.

6.Victor Pereira-Sanchez, Francisco X. Castellanos . Neuroimaging in attention- deficit/hyperactivity disorder. Curr Opin Psychiatry. 2021; 34 (2): 105–111.

7.Réus GZ, Fries GR, Stertz L, Badawy M, Passos IC, Barichello T, Kapczinski F, Quevedo J. The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. Neuroscience. 2015; 23 (30):141-54.

8.Joseph Biederman, Stephen V Faraone. Attention-deficit hyperactivity disorder. Lancet. 2006; 21 (367): 210.

9.Wormwood KL, Aslebagh R, Channaveerappa D, Dupree EJ, Borland MM, Ryan JP, Darie CC, Woods AG. Salivary proteomics and biomarkers in neurology and psychiatry. Proteomics Clin Appl. 2015; 9 (9-10):899-906.

10. Hassan W, Noreen H, Castro-Gomes V, Mohammadzai I, da Rocha JB, Landeira-Fernandez J Association of Oxidative Stress with Psychiatric Disorders. Curr Pharm Des. 2016; 22 (20):2960-2974.

11.Abdallah MW, Larsen N, Grove J, Nørgaard-Pedersen B, Thorsen P, Mortensen EL, Hougaard DM. Amniotic fluid inflammatory cytokines: potential markers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. World J Biol Psychiatry. 2013;14 (7):528-38.

12. Patton, N., Aslam, T., MacGillivray, T., Pattie, A., Deary, I. J., & Dhillon, B. (2005). Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: A rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. In *Journal of Anatomy*. 2006; 23 (4): 319–348.
13. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, ed 5. 2013.
14. Ikram, M. K., Ong, Y. T., Cheung, C. Y., & Wong, T. Y. (2013). Retinal vascular caliber measurements: Clinical significance, current knowledge and future perspectives. In *Ophthalmologica* 2000; 229(3): 125–136.
15. Vaney D. Neuronal coupling in the central nervous system: lessons from the retina. *Novartis Found Symp*. 1999;219:113-125.
16. Justis Pehlers, Yasha Modi, Sunil et al. OCT y OCTa en trastornos de la retina. Edición en español, Barcelona, 2021.
17. Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA: The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 2007; 164 (4): 942–948.
18. Asherson P, Buitelaar J, Faraone SV, Rohde LA: Adult attention-deficit hyperactivity disorder: key conceptual issues. *Lancet Psychiatry* 2016; 3: 568–578.
19. Jose Javier Garcia-Medina, Elena Rubio-Velazquez, Maria Dolores Lopez-Bernal et al. Optical Coherence Tomography Angiography of Macula and Optic Nerve in Autism Spectrum Disorder: A Pilot Study. *J. Clin. Med.* 2020, 9 (4): 31-43.
20. Münevver Tünel, Nedime Şahinoğlu Keşkek. Retinal Scan with Optical Coherence Tomography in Adult Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Fall* 2021;32(3):176-182.
21. Sophia Ling Li, Ka Wai Kam et al. The association between attention-deficit/hyperactivity disorder and retinal nerve fiber/ganglion cell layer thickness measured by optical coherence tomography: a systematic review and meta-analysis. *Int Ophthalmol*. 2021; 41(9): 3211-3221.
22. Derya Kaymak, İbrahim Gündoğmuş et al. Retinal Nerve Fiber Layer Thickness and Its Relationship With Executive Functions in Adult Attention Deficit Hyperactivity Disorder Patients. 2021; 18(12):1171-1179.
23. Serkan Akkaya, Dondu Melek Ulusoy et al. Assessment of the Effect of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder on Choroidal Thickness Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Beyoglu Eye J* 2021; 6 (3):161-165.
24. Hatice Nur Tarakcioglu 1, Semra Yilmaz et al. Foveal avascular zone and vessel density in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Int Ophthalmol* 2020; 40(5):1155-1162.

Hemianopsia como síntoma inicial de valvulopatía mitral infecciosa

Manuel Almarcha Menargues, María Victoria
Navarro Abellán, Juan Antonio Sánchez Perea, José
Javier García Medina.

Introducción:

La endocarditis bacteriana es un proceso infeccioso que se desarrolla en el endotelio vascular o en el endocardio ventricular y se caracteriza por la formación de verrugosidades constituidas por colonias de gérmenes que se alojan en redes de fibrina y que pueden destruir los aparatos valvulares, producir abscesos cardiacos, perforar las paredes endoteliales, originar un cuadro séptico, embolias sépticas y finalmente causar una respuesta inmunológica sistémica. Las manifestaciones clínicas de la endocarditis se pueden agrupar en síntomas y signos consecutivos a embolias sépticas que pueden ser microembolias múltiples o macroembolias que condicionan infartos sépticos, con la posibilidad potencial de formación de abscesos en los órganos blanco de los procesos embólicos. En piel y mucosas se manifiesta por hemorragias petequiales (30% de los casos) y aparece en conjuntiva, paladar, mucosa oral o diseminada en la piel (tobillos y codos). Las hemorragias en “astilla” en los lechos subungueales, ocurren en 10 a 28% de los casos. En el globo ocular se pueden presentar hemorragias petequiales en conjuntivas, manchas de Roth en la retina, que son hemorragias ovoideas con centro blanco cercanas a la papila, y también procesos embólicos de la arteria central o de ramas arteriales que causan amaurosis súbita, así como retinitis o paresias de músculos extraoculares. Se han reportado igualmente manifestaciones neurológicas en endocarditis bacteriana, como la papilitis óptica y trastornos en pares craneales cuarto, sexto y séptimo, no existiendo en la literatura mexicana revisada hasta el momento, ningún reporte de lesiones nodulares en iris originadas por este proceso infeccioso.

Caso clínico:

Mujer de 18 años que acude a urgencias por escotoma en el campo visual temporal del ojo izquierdo del ojo izquierdo de 15 días de evolución, coincidiendo con infección por COVID. No refiere dolor ni disminución de agudeza visual en ninguno de los dos ojos. No refiere otros síntomas sistémicos. Como antecedentes personales presenta una anorexia nerviosa tratada con anterioridad en nuestro centro.

Exploración:

La mejor agudeza visual corregida fue de 1.2 en ojo derecho y de 1.2 en ojo izquierdo. La presión intraocular en ambos ojos fue de 16 mmHg.

En la exploración del segmento anterior del ojo derecho se observó una conjuntiva normocoloreada, una córnea transparente, buena profundidad de cámara anterior, ausencia de Tyndall, iris normal con pupilas isocóricas normorreactivas y cristalino transparente.

En la exploración del segmento anterior del ojo izquierdo se observó una conjuntiva normocoloreada, una córnea transparente, buena profundidad de cámara anterior, ausencia de Tyndall, iris normal con pupilas isocóricas normorreactivas y cristalino transparente.

En la retinografía del ojo derecho se evidenció una única hemorragia en astilla superficial sobre la arcada vascular temporal superior. Se observó que su centro era más pálido y podría corresponder con una mancha de Roth. La mácula tenía un aspecto normal. El nervio óptico presentaba unos márgenes definidos, tamaño de 1.8 mm aproximadamente, bordes no sobreelevados y una excavación de 0.1 aproximadamente. No se observaron exudados, la vascularización era de calibre normal y distribución normal, no presentó alteraciones periféricas tratables y la retina estaba completamente aplicada 360°.

En la retinografía del ojo izquierdo se observó una mácula que tenía un aspecto normal. El nervio óptico presentaba unos márgenes definidos, tamaño de 1.8 mm aproximadamente, bordes

no sobreelevados y una excavación de 0.1 aproximadamente. No se observaron exudados, la vascularización era de calibre normal y distribución normal, no presentó alteraciones periféricas tratables y la retina estaba completamente aplicada 360°.

En la tomografía de coherencia óptica del ojo derecho se observó una configuración normal de la misma con conservación de todas las capas, comprobó que la hemorragia de la arcada vascular temporal superior era superficial.

La tomografía de coherencia óptica del ojo izquierdo fue completamente normal con un perfil foveal conservado.

Se realizó una campimetría donde se observó una hemianopsia homónima izquierda.

Se hizo una tomografía axial computerizada en urgencias en la que se observan dos lesiones cerebrales, una de ellas localizada en la región profunda del lóbulo occipital derecho, hipodensa y con realce en anillo, de morfología irregular, con edema vasogénico importante; contacta con el asta occipital del VL adyacente, a la que comprime, e impresiona de que puede haber realce focalependimario en la zona de contacto: mide 5 x 2 x 1,5 cm aproximadamente.

La segunda lesión se localiza en el lóbulo parietal izquierdo, en la circunvolución precentral, mide 1cm y es hiperdensa en el estudio basal, con un foco central hipodenso; y un nódulo de mayor densidad que realza ávidamente con el contraste. Se acompaña de edema vasogénico moderado.

No se ven lesiones en la fosa posterior en todo sistema ventricular de centrado la línea media ni lesiones óseas. Conclusión:

Lesiones cerebrales en lóbulo occipital izquierdo y lóbulo parietal compatibles con origen neoplásico de comportamiento agresivo con la presencia de necrosis en la de mayor tamaño. La hiperdensidad de la de menor tamaño sugiere que se trate de una lesión altamente celular (células pequeñas redondas) siendo otra posibilidad la existencia de sangrado aunque me parece menos probable.

Habría que considerar como opciones el linfoma cerebral primario. Otras posibilidades incluirían tumor glial multicéntrico, metástasis, aunque me parece menos probable por su comportamiento diferente, se recomienda completar el estudio con resonancia computerizada magnética.

En el TC toraco-abdomino-pélvico con contraste oral e iv:

No se observan consolidaciones, nódulos u otras alteraciones pulmonares. Tampoco adenopatías hiliares, axilares, supraclaviculares, en mediastino y cadenas mamarias, ni derrame pleural o pericárdico.

En el bazo se observa una pequeña lesión periférica subcapsular que mide 1,5 cm máximo, de bordes geográficos, que sugiere como primera posibilidad una lesión isquémica (revisando la historia vemos cultivos positivos para estreptococo, por lo que no se descarta embolismo séptico).

Pequeño bazo accesorio antero-inferior. No se aprecian lesiones en hígado. Las venas suprahepáticas y el eje espleno-portal son permeables. Vesícula, vía biliar, páncreas, suprarrenales, riñones. resto de retroperitoneo, vejiga, útero y anejos sin hallazgos de interés. No se observan adenopatías en retroperitoneo, mesenterio o pelvis ni ascitis. Marco colónico y asas de intestino delgado sin hallazgos significativos. Hueso sin hallazgos de interés.

Como conclusión:

Pequeña lesión esplénica subcapsular de bordes geográficos, que no podemos descartar sea de origen isquémico (émbolo séptico?). No se encuentran otros hallazgos.

La paciente quedó ingresada a cargo de neurología que solicitó dicha resonancia magnética nuclear. En dicho estudio se aprecian múltiples lesiones cerebrales corticosubcorticales, periféricas, infra-supratentoriales:

1. La de mayor tamaño occipital derecha de 3,66cm , de morfología anfractuosa, con realce lineal liso periférico, realce que se extiende hacia la superficie pial. La lesión es heterogénea en T2 con un centro hiperintenso central restringida. Muestra gran cantidad de hierro tanto en la periferia como en el centro y

en la ERM muestra cantidad de lípidos (necrosis) . Se acompaña de edema vasogénico.

2. Una lesión parietal izquierda, que muestra realce en anillo que también se extiende hacia la piamadre de 5mm,marcadamente hipointensa en T2 y en la secuencia SWAN. Se acompaña de edema vasogénico.

3. Una lesión realzante de 3,3mm pial parietal derecha.

4. Un realce nodular de 2,5mm en hemisferio cerebeloso derecho.

5. En la secuencia en dwi se aprecian además 2 focos milimétricos de dwi restringida, uno en cada hemisferio cerebeloso, el izquierdo muestra leve realce .

6. En la secuencia SWAN además aparecen focos de caída de señal milimétricos supra e infratentoriales que podrían corresponder a granulomas no calcificados .

Como conclusión los hallazgos descritos son sugestivos de corresponder a una meningoencefalitis tuberculosa con lesiones en distintos estadios evolutivos, visualizándose tuberculomas y un posible absceso tuberculoso occipital derecho. Otras posibilidades como la neurosarcoidosis, infecciones fúngicas (nocardia) o parasitarias me parecen menos probables.

Durante el ingreso la paciente tuvo fiebre de 38,5°C (episodio de sudoración y escalofríos similar a los anteriores descritos). Se sacó hemocultivo y cedió con paracetamol.

El día 1 de febrero se avisa de microbiología por haber crecido en el cultivo estreptococos. Se extraen 2 nuevos hemocultivos de diferentes accesos venosos y se inicia ceftriaxona 2g/24.

En la ecocardiografía transtorácica se observó una endocarditis infecciosa mitral.

Se realizó reparación quirúrgica de la válvula mitral.

Tras la reparación valvular se instauró tratamiento con ceftriaxona IV durante 4 semanas y anticoagulación oral con sintrom.

Discusión

Las complicaciones neurológicas de la endocarditis infecciosa son frecuentes habiéndose descrito su aparición hasta en el 20-40% de casos. Con frecuencia son la manifestación inicial de la enfermedad, presentándose antes de que llegue a establecerse el diagnóstico de EI e iniciarse el tratamiento. Este es el principal motivo de que su frecuencia y gravedad no haya disminuido en las últimas décadas, a pesar de la notable mejora en las técnicas diagnósticas y en los tratamientos antibióticos.

La embolización de fragmentos de las vegetaciones cardiacas a los vasos sanguíneos cerebrales es el principal mecanismo patogénico y su frecuencia se estima muy alta, ya sea de forma clínicamente silente (pequeños émbolos cerebrales sin expresividad clínica) o como un infarto cerebral sintomático. Los principales factores de riesgo de embolización, y por tanto de complicaciones neurológicas, en la EI son el retraso en el inicio de la terapia antibiótica (un 76% de las complicaciones neurológicas ocurren antes de su instauración), la localización en cavidades izquierdas, el tamaño de la vegetación > 10 mm y la etiología por *S. aureus* y *Streptococcus bovis*. La diseminación infecciosa a distancia y las lesiones mediadas inmunológicamente son otros mecanismos patogénicos conocidos.

Las principales manifestaciones neurológicas de la EI son el ictus isquémico embólico (14-30%), la hemorragia cerebral (3-5%), la encefalopatía aguda (6%), la meningitis (7%), los abscesos cerebrales (2%) y las crisis.

El infarto cerebral embólico (secundario a una embolia séptica o aséptica) es la presentación neurológica más común, siendo la manifestación clínica inicial en un 14% de casos de EI. Es más frecuente en la EI de localización mitral y asocia una alta mortalidad próxima al 50%.

La hemorragia cerebral asociada a la EI es la complicación que mayor mortalidad asocia y puede ser subaracnoidea o intraparenquimatosa (generalmente de localización lobar). Se debe a tres mecanismos fundamentales: la vasculitis cerebral séptica (que provoca la ruptura del vaso tras el daño en su pared

ocasionado por la impactación de un émbolo); la ruptura de aneurismas micóticos (en este caso la complicación neurológica suele ser tardía); y la transformación hemorrágica de un infarto cerebral (infarto hemorrágico), como ocurrió en el segundo caso que describimos. Esta última condición es habitual en los infartos por embolias sépticas y con frecuencia es asintomática, aunque cuando se asocia con el uso de anticoagulantes puede conllevar una importante deterioro neurológico .

La meningitis aguda asociada a la endocarditis bacteriana se debe por lo general a gérmenes virulentos, muy infrecuentemente es la manifestación inicial de la EI y presenta típicamente un perfil aséptico en el LCR con discreta pleocitosis mononuclear. En su mecanismo patogénico se implica el desarrollo de micro abscesos cerebrales secundarios a la embolización séptica. La ausencia de pleocitosis hace excepcional la forma de presentación de la meningitis aguda con la que debutó la EI del tercer caso descrito. El mecanismo patogénico de este tipo de afectación meníngea (con recuento celular normal en el LCR) en la EI no es claro, pero está descrito excepcionalmente con gérmenes poco virulentos (como el *Streptococci* grupo B, postulándose un origen inmunológico-inflamatorio o el desarrollo de múltiples microembolismos asépticos en las meninges .

La aparición de complicaciones neurológicas ensombrece dramáticamente el pronóstico de la EI, incrementando hasta 3.2 veces la mortalidad . En este sentido es fundamental su reconocimiento precoz ya que el riesgo de embolismo cerebral disminuye a menos de un 5% después de 48 horas de controlada la infección.

El manejo de las complicaciones neurológicas de la EI es debatido, planteándose varios dilemas. La anticoagulación no se considera indicada en las embolias cerebrales asociadas a endocarditis de válvulas nativas ya que aumenta el riesgo de transformación hemorrágica sintomática, mientras que sí se recomienda en la EI sobre prótesis o ante la existencia de otras fuentes embólicas como fibrilación auricular. Otro dilema lo constituye la indicación de cirugía valvular y el momento de la misma. Clásicamente se había considerado que las complicaciones

neurológicas podrían constituir una contraindicación al recambio valvular en fase aguda, ya que el riesgo de deterioro neurológico aumenta dramáticamente cuanto menos tiempo transcurre entre la manifestación neurológica y la intervención. No obstante, numerosas series defienden que la aparición de un evento neurológico es indicación “per se” para el tratamiento quirúrgico, mientras otros trabajos sugieren cierto beneficio con la cirugía en la fase aguda y otros sostienen que la embolia encefálica única no es indicación de cirugía cardíaca si la EI está controlada con tratamiento médico. En principio, ante la aparición de alteración neurológica asociada a la EI siempre se recomienda la realización de un estudio de imagen cerebral. Si se documenta la existencia de un infarto no hemorrágico se aconseja plantear cirugía esperando 2-4 semanas, si la situación lo permite; cuando se objetiva una hemorragia debe practicarse una angiografía cerebral para descartar la existencia de un aneurisma cerebral que requiera un abordaje neuroquirúrgico previo a la intervención cardíaca, que debería demorarse al menos 4-6 semanas; y si no se aprecian lesiones cerebrales (como en el caso de la meningitis asociada a la EI) se puede proceder a la sustitución valvular sin demora si existe indicación para la misma por existir mala evolución con tratamiento médico y/o factores de mal pronóstico en la fase activa (insuficiencia cardíaca refractaria; regurgitación valvular significativa; persistencia de sepsis; embolia sistémica recurrente; gérmenes virulentos de difícil erradicación con terapia médica; desarrollo de complicaciones mecánicas severas o fenómenos inmunológicos graves; prótesis valvular disfuncionante).

En cualquier caso, el diagnóstico precoz y el rápido inicio de la terapia antibiótica constituyen el arma más efectiva para prevenir el desarrollo de complicaciones neurológicas y mejorar, por tanto, el pronóstico de los pacientes con EI.

Una mancha de Roth es un grupo de hemorragias retinianas superficiales de forma ovalada, con centro pálido. Suele verse cerca del disco óptico. En la endocarditis, este cúmulo representa glóbulos rojos que rodean a células inflamatorias que se han acumulado en la zona en respuesta a una embolia séptica procedente de vegetaciones valvulares .

La oclusión arterial retiniana se produce como complicación de una embolia séptica o aséptica. Las manifestaciones clínicas dependen de la localización de la oclusión. Se distinguen las siguientes.

La oclusión de la arteria central de la retina se presenta como una pérdida de visión repentina, completa e indolora en un ojo. La fundoscopia muestra un edema pálido de la retina, sobre todo en el polo posterior, donde las capas de fibras nerviosas y células ganglionares son más gruesas. El reflejo anaranjado de la foveola con la vasculatura coroidea intacta contrasta con la retina neural opaca que la rodea, produciendo la mancha rojo cereza. La oclusión arterial central de la retina (OACR) tiene un mal pronóstico. Si no se trata en la primera hora, puede conducir a la pérdida permanente de la visión y a otras complicaciones oculares .

La oclusión arterial de rama de la retina (OAR) puede ser clínicamente asintomática. Si es sintomática, el paciente puede referir una pérdida de visión o una amputación del campo visual. La fundoscopia muestra un edema pálido debido al infarto de la retina interna en la distribución del vaso afectado. Con el tiempo, el vaso ocluido se recanaliza, la perfusión regresa y el edema se resuelve; sin embargo, queda un defecto de campo permanente.

La oclusión arterial oftálmica es responsable de la interrupción de las circulaciones retiniana y ciliar posterior. El pronóstico visual, en esta entidad, suele ser peor. Si está consciente, el paciente presenta dolor, pérdida súbita y completa de la visión. El examen oftalmológico reveló ausencia de percepción de la luz, oftalmoplejía y midriasis no reactiva. La fundoscopia muestra un notable edema de toda la retina, resultante de la isquemia de la retina interna y externa y de los vasos retinianos blanqueados . La mancha rojo cereza no se observa en este caso debido al compromiso coroideo y a la probable opacificación del epitelio pigmentario de la retina o de la coroides, o de ambos, en aproximadamente el 40% de los ojos. La angiografía con fluoresceína reveló una alteración de los flujos vasculares y coroides de la retina (figura 4). Una mancha rojo cereza puede estar ausente inicialmente, pero luego aparece en un período de varios días a medida que mejora la perfusión de la coroides .

La infiltración retiniana y vítrea puede ser debida a una embolia séptica que puede provocar una uveítis posterior (retinitis, coriorretinitis, coroiditis e infiltración vítrea). En la mayoría de los casos, la uveítis posterior se diagnostica erróneamente y se complica con una endoftalmitis

La endoftalmitis es una afección en la que todas las estructuras internas del ojo están invadidas por microorganismos replicantes y se asocia a una importante respuesta inflamatoria. La endoftalmitis bacteriana endógena es una patología poco frecuente que afecta a individuos de cualquier edad y representa el 2-15% de todos los casos. La endocarditis es la segunda causa más frecuente de endoftalmitis endógena después de la meningitis. La tasa de endoftalmitis puede aumentar un 50% con la endocarditis a *S. aureus*. El ojo derecho suele estar más afectado que el izquierdo. La aparición de los signos y síntomas depende de la virulencia patógena. Típicamente, el paciente presenta dolor, quemosis, proptosis, hipopión y fusión de la córnea. Los hemocultivos son positivos en más del 90% de los casos de endocarditis infecciosa. El germen etiológico más frecuente es el *Streptococcus* 45,7% y la valva se vio afectada en el 27,2% de los episodios. La terapia sistémica puede ser suficiente cuando la cavidad vítrea no está muy afectada. En los demás casos, son necesarias las inyecciones intravítreas de antibióticos y la vitrectomía.

La neovascularización subretiniana secundaria a una metástasis séptica coroidea fue reportada en dos casos. La neovascularización se produce en las cicatrices coroideas con un retraso variable (10 meses y 5 años).

Conclusión.

Presentamos un caso de endocarditis subaguda cuya primera sintomatología fue oftalmológica, siendo los hallazgos una hemianopsia homónima izquierda y una hemorragia de Roth sin una clínica sistémica acompañante.

La alta sospecha clínica de una lesión a nivel neurológico en estos casos puede permitir realizar un diagnóstico muy precoz y conseguir una resolución del cuadro sin secuelas a nivel sistémico.

Utilidad de la autofluorescencia en el diagnóstico y seguimiento de uveítis posterior.

María Victoria Navarro Abellán. Manuel Almarcha Menargues. Celia Gómez Moreno. José Javier García Medina.

Objetivo:

Documentar e informar de la utilidad del estudio imagen multimodal mediante autofluorescencia (AF) en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con uveítis posterior, presentación de un caso clínico de coroiditis serpiginosa (CS).

Destacar y repasar los conceptos básicos para realizar un diagnóstico diferencial entre dos tipos de uveítis posterior, la secundaria a infección por tuberculosis, CS-Like, y la patología autoinmune idiopática, CS.

Introducción:

La uveítis posterior es una de las principales causas de morbilidad ocular en todo el mundo, consiste en una inflamación de la coroides y/o retina. Los corticoesteroides sistémicos siguen siendo el principal método de tratamiento de la uveítis posterior no infecciosa. Un tipo de uveítis posterior idiopática es la coroiditis serpiginosa, es una inflamación coroidea bilateral y asimétrica, que produce placas de atrofia retiniana por la pérdida de la capa coriocapilar y del epitelio pigmentario de la retina. Los hallazgos histológicos de las lesiones son atrofia de la coriocapilar, del epitelio pigmentario de la retina y de las células fotorreceptoras, y moderados infiltrados linfocíticos difusos en toda la coroides. Inicialmente diagnosticada en pacientes con tuberculosis y sífilis, se considera un proceso autoinmune predominantemente. Con el avance del diagnóstico molecular, ha surgido un nuevo aspecto de los subtipos infecciosos del CS. Las terminologías como coroiditis serpiginosa-like (CS-L) y coroiditis

serpiginoide multifocal se utilizan ahora para denotar los subtipos de SC que se asocian a etiologías infecciosas, especialmente la tuberculosis. En un país endémico de tuberculosis como la India, es muy importante diferenciar entre el SC clásico y el SLC antes de iniciar un tratamiento inmunomodulador agresivo. Además, el manejo del empeoramiento paradójico del estado clínico con el tratamiento antituberculoso es otro reto en el CS-L y los oftalmólogos deben ser conscientes de estas situaciones.

Aunque el fenómeno de la autofluorescencia del fondo de ojo se conoce desde hace décadas, sólo recientemente se ha reconocido como una medida de la función y la salud del epitelio pigmentario de la retina (EPR). Se han descrito patrones característicos de AF del fondo de ojo en ojos afectados por una inflamación del segmento posterior, y estos patrones han aportado información sobre la patogénesis de las entidades de uveítis posterior. Además, los datos preliminares indican que las características de la autofluorescencia del fondo de ojo pueden servir como marcadores de la actividad de la enfermedad, permiten predecir el pronóstico visual y pueden ayudar a determinar la idoneidad del tratamiento. Con la llegada de nuevas modalidades de imagen, el seguimiento del paciente con coroiditis y la identificación de complicaciones como la membrana neovascular coroidea se han vuelto mucho más fáciles. El estudio multimodal mediante autofluorescencia es un método de imagen novedoso que permite el mapeo topográfico de la distribución de la lipofusina en la monocapa celular del epitelio pigmentario de la retina, así como de otros fluoróforos que pueden aparecer con la enfermedad en la retina externa y el espacio subneurosensorial, es decir, destaca las alteraciones metabólicas del epitelio pigmentario de la retina. La imagen de autofluorescencia ofrece información que va más allá de la obtenida por los métodos de imagen convencionales, como la fotografía del fondo de ojo, la angiografía con fluoresceína y la tomografía de coherencia óptica. Su valor clínico, unido a su naturaleza sencilla, eficiente y no invasiva, es cada vez más apreciado. Es una técnica innovadora que ha facilitado el diagnóstico y el seguimiento de pacientes con uveítis posterior.

Métodos:

Unidad de Uveítis del Servicio de Oftalmología del Hospital Morales Meseguer. Presentamos un caso clínico observacional de coroiditis serpiginosa documentado fotográficamente durante dos años. Los datos clínicos se recogieron retrospectivamente en varias visitas. Los datos incluyeron la agudeza visual corregida (AVC), presión intraocular (PIO), las características del segmento anterior, el examen del fondo de ojo (FO), retinografías, la tomografía de coherencia óptica (OCT) mediante ZEISS Cirrus HD-OCT 4000 y tanto la autofluorescencia (AF) como la angiografía de fluorescencia (AGF) que fueron realizadas con Spectralis-OCT.

Resultados:

Presentamos un caso clínico retrospectivo observacional de una mujer de 49 años en seguimiento en la unidad de uveítis por una coroiditis serpiginosa diagnosticada 12 años atrás. El antecedente personal era una tuberculosis diagnosticada en 2010 con Mantoux + que se trató correctamente con la combinación estándar de Isoniazida, Rifampicina, Etambutol y Pirazinamida, seguido de una combinación de Isoniazida y Rifampicina solamente. Actualmente se encontraba en tratamiento crónico con Desvenlafaxina, antidepresivo que pertenece a un grupo de medicamentos denominados inhibidores de la recaptación de la serotonina y la noradrenalina (IRSN). Este grupo de medicamentos se utiliza para tratar la depresión.

Diez años después, 2020, en la revisión de la nueva Unidad de Uveítis del Hospital Universitario Morales Meseguer, presentaba una mejor agudeza visual corregida (MAVC) de movimiento de mano (MM) en ojo derecho (OD) y de 0.5 en ojo izquierdo (OI). La presión intraocular (PIO) en OD de 17mmHg y en OI de 20 mmHg, dentro de los límites de la normalidad. La exploración mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura (LH) en ambos ojos (AO) nos muestra ausencia de hiperemia conjuntival, una cámara anterior de buena profundidad, la cornea transparente, el Tyndall negativo, un iris normal sin sinequias y facoesclerosis.

El examen del fondo de ojo (FO) reveló la ausencia de vitritis, papila bien delimitada con un diámetro de excavación papilar de 0,3. La macula estaba afectada por cicatrices atróficas posteriores a la coroiditis de tipo serpiginoso con afectación bilateral y peripapilar, más moderada en OD que en OI, lo cual se correlacionaba con las MAVC.

Se le hacían seguimientos anuales dado la cronicidad y la estabilidad de la AV. Sin embargo, en el seguimiento anual de 2022, nos llamó la atención el descenso de la MAVC en OD, siendo percepción de luz (PL) y en OI de 0.3. La PIO estaba dentro de la normalidad, y no se encontraron alteraciones en cámara anterior respecto a otros seguimientos. En apariencia, el fondo de ojo parecía estable respecto a las retinografías anteriores, sin embargo, en el estudio de imagen multimodal la OCT mostró disrupción de las capas externas de la retina, la AGF destacó una placa de atrofia y lo más llamativo, fue la aparición en AF de un nuevo halo de hipoa autofluorescencia difusa rodeando una nueva lesión hiperautofluorescente cerca de la arcada temporal superior. Gracias a la autofluorescencia, se diagnosticó de una nueva reactivación de la CS. Se decidió realizar un estudio de muestras, de cámara anterior mediante paracentesis con aguja 30G y vítreas mediante vitrectomía pars plana (VPP). Los resultados de las muestras de humor acuoso y vítreo fueron negativos, descartándose una infección activa. Finalmente, se diagnosticó la nueva lesión como una reactivación de la CS. El tratamiento para mejorar su MAVC fueron bolos de corticoides sistémicos, tanto intravenosos como posteriormente oral en dosis descendentes y terapia biológica, con Ciclosporina A, mejorando de nuevo su agudeza visual en OI, aumentando de 0.3 a 0.4. En OD continuó con PL, dada la fase crónica de atrofia irreversible.

Estudios posteriores de imagen multimodal realizados con AF a finales de 2022 demostraron como la lesión de reactivación tratada, eran completamente hipofluorescentes los parches de atrofia con hipoperfusión coroidea menos marcada, la atrofia de las capas externas de la retina persistió. Por lo tanto, una vez tratada con terapia inmunosupresora no se encontraron signos de actividad. Señalamos la importancia del uso de la AF en el

diagnóstico y seguimiento de patología uveítica posterior, como en el caso presentado de coroiditis serpiginosa.

Discusión:

Sugiere la reactivación de coroiditis serpiginosa la aparición de una nueva placa de atrofia retiniana, la disrupción de las capas externas de la retina con pérdida de la capa elipsoide en la OCT, la aparición de bordes cremosos mal definidos, el bloqueo temprano y un exudado difuso en momentos tardíos en la AGF e hipoperfusión coroidea acompañada de halo hipoa autofluorescente difuso rodeando el borde hiperauto fluorescente alrededor en la AF. En contraposición, cuando la enfermedad esta inactiva se produce una atrofia coriorretiniana con tinción progresiva de los bordes en la AGF, la hipoperfusión coroidea es menos marcada, los parches de atrofia son completamente hipofluorescentes en la AF y presenta atrofia de las capas externas de la retina en la OCT.

En este tipo de patología, la AF, destaca su eficacia de diagnosticar una reactivación de la uveítis posterior secundaria a coroiditis serpiginosa, la lesión coroidea pasa de ser hipofluorescente a hiperfluorescente. Esta nueva modalidad de estudio de imagen no invasivo, ha demostrado proporcionar información adicional a las modalidades de imagen convencionales siendo costoefectiva. El dispositivo se basa en un sistema Spectralis de Heidelberg Engineering. Los tiempos de vida de la autofluorescencia se excitan a 473 nm y se registran en dos canales de longitud de onda espectral, un canal espectral corto (SSC, 498-560 nm) y un canal espectral largo (LSC, 560-720 nm). Normalmente, se investigan los tiempos medios de vida de la autofluorescencia en un campo retiniano de 30°. La AF muestra una clara ventaja para la obtención de imágenes de diferentes enfermedades de la retina, no solo en uveítis posteriores sino por ejemplo, en la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), donde se aprecian patrones de anillo de vidas prolongadas a 1,5-3,0 mm de la fóvea. La telangiectasia macular tipo 2 (MacTel) muestra un patrón diferente, con vidas prolongadas dentro de la zona típica de MacTel. En la enfermedad de Stargardt, las motas de la retina pueden apreciarse incluso antes de que sean visibles

en otras modalidades de imagen. La toxicidad temprana de la Hidroxicloroquina parece ser detectable también. En resumen, esta técnica tiene más potencial que aún está por descubrir, y se considera que debería añadirse a los protocolos de estudio de imagen en algunos tipos de enfermedades como las comentadas.

Destacar la importancia de realizar un diagnóstico diferencial entre coroiditis serpiginosa y tuberculosis. El *Mycobacterium tuberculosis* puede afectar diferentes estructuras oculares. Dentro de estas se encuentra, la coroides o capa vascular del globo ocular en la cual se pueden observar diferentes fenotipos causados por esta bacteria, dentro de los que se encuentran los tubérculos coroides, el tuberculoma corioideo y la coroiditis serpiginosa-like (CS-L). La CS-L suele afectar adultos jóvenes y comprometer de forma unilateral la retina externa y la coroides interna, produce vitritis. La CS-L se debe diferenciar de la coroiditis serpiginosa la cual es una patología inflamatoria, bilateral y progresiva a la que se le atribuye una etiología inmunomediada, no hay signos de infección. La coroiditis serpiginosa produce una afectación unilateral y/o bilateral, con afectación inicial del área peripapilar, no produce vitritis, no suele ser multifocal y los test de detección de la tuberculosis (Mantoux e IGRAs) dan resultados negativos. Sin embargo, la tuberculosis, es una infección de afectación unilateral con respeto del área peripapilar, siendo las lesiones multifocales, apreciándose vitritis en el fondo de ojo y obteniendo unos resultados positivos en Mantoux o IGRAs. La tuberculosis extrapulmonar puede comprometer incluso el globo ocular sin tener compromiso histológico y radiológico pulmonar. Usualmente la CS-L tiende a tener un comportamiento unilateral. La CS-L se caracteriza por presentar síntomas como disminución de la visión y en algunos casos se ha asociado a dolor ocular. Guedes ME et al. reportaron hallazgos clínicos como inflamación en cámara anterior, vitritis, coroiditis multifocal de color amarillo blanco subretinales, localizadas en polo posterior en pacientes con CS-L. La forma típica de crecimiento de estas lesiones es centrípeta. En el estudio de Bansal et al. los hallazgos clínicos en 141 ojos fueron: lesiones multifocales 94,9%, compromiso macular: 88,65%, lesiones no cerca del nervio óptico 86,52%, vitritis 81,56%, localización en polo posterior más periferia 73,76%, afectación bilateral (con al

menos un ojo activo) 62,9%, compromiso nasal al disco 53,9%, coroiditis perivascular 9,9%, reacción en cámara anterior 9,2%, edema macular 4,9%, edema disco óptico 4,25%, hemorragias retinianas 3,5%, vasculitis retiniana 2,1%. La fovea fue respetada en el 76 % de los ojos. Las membranas neovasculares coroideas son raras y se pueden presentar en un 3,5% de los casos. También hay descritos 3 casos de neovascularización del nervio óptico en paciente con CS-L. Después de tratamiento la CS-L progresa a cicatrices hiperpigmentadas o atrofia extensa del EPR. Otro estudio retrospectivo de serie de casos CS-L, encontró afectación de los ojos con: uveítis anterior 45%, vitritis 45 %, coriorretinitis multifocal 100%, lesiones dentro y fuera de arcadas 100%, lesiones de forma irregular 100%, lesiones continuas al nervio óptico 36%, lesiones activas más cicatrices 45%. Debido al curso clínico insidioso y progresivo de ambas patologías, la evaluación de los resultados del tratamiento requiere un seguimiento completo a largo plazo, dependiendo de la estabilidad de la patología se espaciarán más las visitas de seguimiento en consultas externas de Oftalmología.

El tratamiento para mejorar la MAVC en CS consiste fundamentalmente en corticoides y terapia biológica. El uso de terapia biológica vía intravítrea como tratamiento de la uveítis no infecciosa es un enfoque innovador. Previamente al uso de terapia inmunosupresora debe descartarse infección activa. La naturaleza inflamatoria de la enfermedad se ha propuesto desde hace tiempo, respaldada por las observaciones clínicas de vitritis, uveítis anterior y flebitis en algunos pacientes. También apoya el hallazgo un infiltrado linfocítico inflamatorio en la coroides y la pared de los vasos en un informe histopatológico. La asociación con la molécula HLA B7 del MHC en una población finlandesa y el hallazgo de una disminución del factor C3 del complemento en tres pacientes con coroiditis serpiginosa se han dado como pruebas adicionales de una etiología autoinmune. Se ha estudiado la respuesta inmunitaria a los antígenos S de la retina bovina mediante un ensayo de proliferación de linfocitos in vitro, inhibición de la migración de leucocitos y ELISA¹² y se ha observado una sensibilización al antígeno S en pacientes con coroiditis serpiginosa. La resolución acelerada de las lesiones activas en la

coroiditis serpiginosa cuando se trata con esteroides y diversos agentes antiinflamatorios también indica que la inflamación puede desempeñar un papel importante en la patogénesis de la coroiditis serpiginosa. No se ha realizado ningún ensayo clínico aleatorio sobre el tratamiento de la coroiditis serpiginosa y el tratamiento sigue limitándose a la terapia convencional con esteroides, antimicrobianos e inmunosupresores. Al tratarse de una enfermedad rara con una progresión clínica insidiosa, la realización de un ensayo clínico de este tipo sería difícil. Según los estudios realizados, en el tratamiento inicial de los pacientes con coroiditis serpiginosa, el control rápido de cualquier lesión activa con una inmunosupresión agresiva y, posteriormente, el mantenimiento de una inmunosupresión adecuada durante al menos 6 meses para evitar cualquier recidiva inmediata. El tratamiento posterior dependerá de la gravedad de la enfermedad, por lesiones foveales amenazantes en un ojo que sólo ve, el estado físico (la edad y enfermedad sistémica asociada), preocupaciones como la fertilidad y la respuesta al tratamiento inmunosupresor inicial. Los beneficios del tratamiento deben ser valorados frente al riesgo potencial de efectos adversos del tratamiento. En resumen, el algoritmo de tratamiento propuesto es el de un enfoque escalonado, utilizando corticosteroides sistémicos e inyecciones perioculares de esteroides como primera línea para controlar las lesiones activas y utilizando simultáneamente un tratamiento inmunosupresor como la Ciclosporina A, la Azatioprina o el Micofenolato de Mofetilo como monoterapia de mantenimiento durante 6 meses como mínimo para evitar recaídas. En su defecto, si no encontramos mejoría a los meses, podría considerarse una terapia combinada similar a la triple terapia o a los agentes alquilantes, tras un adecuado estudio de riesgos siempre en consenso con la opinión y preferencias del paciente.

Un estudio realizado en 29 pacientes con presunta coroiditis serpiginosa fueron sometidos a imágenes de autofluorescencia del fondo de ojo durante la fase aguda y a intervalos regulares hasta la curación de las lesiones. Todos los pacientes recibieron tratamiento con corticosteroides orales. Las imágenes de autofluorescencia se compararon con la fotografía de fondo de

ojo en color y la angiografía de fondo de ojo con fluoresceína. La principal medida de resultado fueron las características de la autofluorescencia del fondo de ojo de las lesiones durante el curso de la enfermedad. El patrón de autofluorescencia del fondo de ojo cambió a medida que las lesiones evolucionaban desde la fase aguda hasta la fase de curación. En el estadio agudo, las lesiones mostraban un halo mal definido de aumento de la autofluorescencia (hiperautofluorescencia), lo que le daba un aspecto difuso y amorfo (estadio I, agudo). A medida que las lesiones empezaban a cicatrizar, un fino borde de autofluorescencia disminuida (hipoautofluorescencia) rodeaba la lesión, definiendo sus bordes. Las lesiones mostraban una hiperautofluorescencia predominante con un patrón punteado (estadio II, subagudo). Con la curación posterior, la hipoautofluorescencia progresó y la lesión apareció predominantemente hipoautofluorescente con patrón punteado (estadio III, casi resuelto). En la curación completa, las lesiones se volvieron uniformemente hipoautofluorescentes (estadio IV, completamente resuelto). Concluyó que la AF del fondo de ojo puso de manifiesto las zonas de actividad de la enfermedad y fue una herramienta de imagen rápida para el seguimiento de la evolución de las lesiones en la coroiditis serpiginosa.

Para concluir, en cuanto al seguimiento de la patología uveítica posterior idiopática por CS, dada la progresión crónica e insidiosa, consideraríamos la MAVC, las fotografías seriadas del fondo de ojo en color mediante retinografía, la OCT y la angiografía, así como el autocontrol con una tabla de Amsler en pacientes con CS, pueden ser útiles para la detección temprana de la recurrencia y la progresión de la patología. En estos casos clínicos de uveítis posterior, plantearíamos la AF como otra medida más, ya que en un primer momento, no parecía reactivación en el FO ni en la OCT, hasta que se realizó una AF. Puesto que la AGF es más invasiva y es menos costoefectiva respecto a la AF, la cual consideramos una buena alternativa no invasiva y costoefectiva en el seguimiento de la CS. Las imágenes de AF han demostrado ser útiles para la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos, el diagnóstico, la correlación fenotipo-genotipo, la identificación de marcadores de pronóstico para la progresión de la enfermedad y nuevos parámetros de resultados para evaluar la eficacia de las estrategias

de intervención en las enfermedades coriorretinianas. Más recientemente, el espectro de imágenes de FAF se ha ampliado con el uso creciente de AF verde además de azul, la introducción de AF con resolución espectral, AF en el infrarrojo cercano, imágenes cuantitativas e imágenes de fluorescencia en tiempo de vida, entre otras.

Las implicaciones de la parte clínica por parte de enfermería serían la toma de AV del paciente sin/con corrección y valorar después con agujero estenopeico, también la realización de pruebas para evaluar la PIO con la tonometría de aire o la refracción con el refractómetro automático, Ejecución de pruebas de imagen multimodal como la OCT y AF. En la AGF, es muy importante su participación para la toma de vía venosa y administración intravenosa de Fluoresceína.

Conclusiones:

El estudio mediante imagen multimodal realizado con autofluorescencia es importante para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con cicatrices atróficas por uveítis posterior secundaria a coroiditis serpiginosa.

Debe realizarse un diagnóstico diferencial entre la coroiditis serpiginosa y la uveítis posterior secundaria a tuberculosis, CS-like.

En enfermedades inflamatorias que requieren tratamiento corticoideo o terapia biológica, se debe descartar previamente cualquier tipo de infección.

Se necesitan estudios multicéntricos para evaluar la etiología, la patogénesis y la eficacia de diferentes estrategias de tratamiento en un número suficiente de pacientes con coroiditis serpiginosa.

Efecto de la suplementación oral con nutracéuticos durante 2 años sobre el estado redox y la función visual en pacientes con retinosis pigmentaria

Lorena Olivares-González^{1,2}, David Salom^{3,4}, Emilio
González-García⁵, David Hervás⁶, Natalia Mejía
Chiquí¹, Mar Melero⁷, Sheyla Velasco¹, Bianca Tabita
Muresan⁸, Isabel Campillo¹, Nieves Vila Clérigues⁷,
Eduardo López Briz⁷, Juan Francisco Merino^{9,10}, José
María Millán^{2,4,11}, José Miguel Soriano^{10,12}, Regina
Rodrigo^{1,2,4,10,13}

¹Patofisiología y terapias de enfermedades de la visión, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, España;

²Unidad mixta de Enfermedades Raras CIPF- Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS-La Fe), Valencia, España;

³Departamento de Oftalmología, Hospital de Manises, Manises, España;

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, España;

⁵Departamento de Neurociencias, Hospital de Manises, Manises, España;

⁶Departamento de Estadística e Investigación Operativa Aplicadas y Calidad, Universidad Politécnica de València, Valencia, España;

⁷Servicio de Farmacia, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España;

⁸Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General Universitario, Valencia, España;

⁹Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España;

¹⁰Unidad Mixta de Endocrinología, Nutrición y dietética Clínica UV-IIS La Fe, Valencia, España;

¹¹*Biomedicina molecular, Celular y Genómica, IIS-La Fe, Valencia, España;*

¹²*Food & Health Laboratory, Instituto Universitario de Ciencia de los Materiales (ICMUV), Universidad de Valencia (UV), Valencia, España;*

¹³*Departamento de fisiología, UV, Valencia, España.*

INTRODUCCIÓN

La retinosis pigmentaria (RP) es la enfermedad más común entre el grupo de distrofias de la retina y constituye la mayor causa de ceguera hereditaria en el mundo desarrollado [1]. Se considera una enfermedad rara con una prevalencia de 1 por cada 4.000 individuos y se caracteriza por la pérdida progresiva e irreversible de la visión debida a la muerte de células fotorreceptoras (bastones y conos) [2, 3]. La RP presenta una alta heterogeneidad genética y clínica. Hasta la fecha, se conocen más de 130 genes que causan diferentes formas de RP tanto sindrómicas como no sindrómicas [4].

En etapas iniciales de la enfermedad se produce la degeneración progresiva de los bastones y es altamente probable que la degeneración de los conos esté influenciada por el estrés oxidativo, la liberación de moléculas inflamatorias y otras sustancias tóxicas liberadas tras la muerte de los bastones [5].

El estrés oxidativo se define como una perturbación causada por un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la capacidad del sistema antioxidante para eliminarlas. Los antioxidantes son moléculas que interactúan con los radicales libres para neutralizarlos. El sistema antioxidante incluye antioxidantes endógenos como enzimas antioxidantes tales como la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPx) y la catalasa (CAT), antioxidantes no proteicos (glutatión (GSH), ácido lipoico, bilirrubina, etc.) o minerales (selenio, zinc, hierro), entre otros, y antioxidantes exógenos que se adquieren con la dieta como algunas vitaminas, flavonoides o β -carotenos.

En modelos animales y en pacientes de RP, varias evidencias apoyan la presencia de estrés oxidativo durante el desarrollo de la enfermedad [6-9], observándose bajos niveles de algunos componentes antioxidantes y aumentos de algunos marcadores de estrés oxidativo [7, 8, 10]. En nuestro caso previamente encontramos un estado antioxidante-oxidante (redox) alterado en humor acuoso y sangre periférica de pacientes con RP. En ese estudio, observamos una menor respuesta antioxidante y un mayor estrés oxidativo sanguíneo en pacientes con RP que en

controles [11]. Además, observamos una fuerte asociación entre un mejor estado redox ocular y una mejor función visual en estos pacientes. Existen otros estudios que corroboran estos resultados [12, 13] y en los que se observa que el tratamiento con diferentes formulaciones antioxidantes [8, 14-16] o la sobreexpresión de las enzimas antioxidantes endógenas [12, 17], reduce el estrés oxidativo y la muerte de los conos en diferentes modelos murinos de RP.

Los nutraceuticos son sustancias naturales presentes en los alimentos con beneficios fisiológicos, que pueden actuar sobre múltiples procesos, incluyendo el sistema de defensa antioxidante, la inflamación, la proliferación o muerte celular [18, 19]. Incluyen oligoelementos (selenio, zinc, cobre), ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), carotenoides (xantofilas y carotenos), polifenoles, saponinas, vitaminas (A, C, grupo B), etc. Esos nutraceuticos podrían ser utilizados para el tratamiento de diferentes enfermedades de la retina, incluyendo la RP, la retinopatía del prematuro, la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) o la retinopatía diabética [20-25].

Recientemente, hemos descrito que una mezcla de nutraceuticos antioxidantes (llamados NUT) mejoró la función visual y el estado redox en ratones rd10, un modelo de RP autosómica recesiva [26]. Basándonos en estos resultados, nos propusimos evaluar el efecto de NUT en la función visual y el estado redox en pacientes con RP después de dos años de intervención nutricional.

En este estudio prospectivo doble ciego controlado por placebo, 31 pacientes con RP fueron aleatorizados para recibir de manera diaria un suplemento nutricional que contenía una mezcla de carotenoides, vitaminas y minerales o placebo durante dos años. Tras dos años de tratamiento evaluamos su efecto sobre la función visual y el estado redox ocular y sistémico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la

Investigación en Medicamentos (CEIm) del Hospital Universitario La Fe (Valencia, España). La gestión de los datos personales de los participantes se realizó de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 y el Reglamento (UE) 2016/679 (RGPD). Los datos recopilados fueron anonimizados.

Los pacientes en distintas etapas de RP fueron reclutados de Retina Comunidad Valenciana-Asociación Afectados por Retinosis Pigmentaria (RETINACV), y del Servicio de Oftalmología del Hospital de Manises (Valencia, España) entre junio de 2015 y abril de 2017 según los siguientes criterios de inclusión: diagnóstico clínico oftalmoscópico, campimétrico y electrorretinográfico de RP típica; umbral final de adaptación a la oscuridad elevado; estrechamiento arteriolar retiniano, alteraciones pigmentarias características en media periferia; disminución concéntrica del campo visual (CV) y electrorretinograma (ERG) reducido y retrasado; mayores de 18 años; índice de Masa Corporal ≤ 40 y peso $\geq$ al percentil cinco para cada edad, sexo y estatura.

Pacientes con RP atípica (RP paravenosa, Enfermedad de Refsum, Síndrome de Bardet-Biedl y Retinitis Puntata Albicans); con sordera congénita profunda; con enfermedades oculares como glaucoma, retinopatía diabética, uveítis o cataratas subcapsulares posteriores o sistémicas graves; pacientes que estuviesen tomando vitaminas u otros antioxidantes; embarazo; trastornos alimentarios o psiquiátricos; pacientes con enfermedades infecciosas activas o no infecciosas graves o alergia a la familia de plantas Compositae (Asteraceae) o tartrazina se excluyeron del estudio. Inicialmente se incluyeron en el estudio 33 pacientes con RP (tabla 1). Los controles fueron reclutados en el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario La Fe (Valencia) y en el Biobanco La Fe (Valencia, España).

Tabla 1. Características de los participantes

Características	Controles		
(para muestras de sangre)	Controles		

(para muestras oculares)	RP		
Hombres	10	7	18
Mujeres	16	9	15
Edad (años)	44 (3)	68 (5)	51(2)
Media (SEM)			
Fumadores			
(n fumadores/ grupo)	6/26	--	7/33
Peso (kg)	70.6 (18.3)	--	71.1 (17.2)
Altura (cm)	168 (8)	--	166 (8)
IMC (kg/m ²)	24.9 (1.4)	--	25.6 (4.5)
IMC: índice de masa corporal			

Diseño de Estudio

Treinta y un pacientes con RP fueron aleatorizados en grupos paralelos, y recibieron cápsulas que contenían NUT o placebo (PLC) durante un período de dos años (Figura 1). La suplementación oral se realizó tomando dos cápsulas de NUT o de PLC al día. La formulación de NUT se diseñó según las Ingestas Dietéticas de Referencia (DRI) para la Población Española para cada compuesto [27] por el Dr. José Miguel Soriano (Food & Health Lab, Instituto de Ciencia de los Materiales, UV, Valencia, España). Todos los sujetos se sometieron a una encuesta clínica que incluyó parámetros específicos que podrían influir en el resultado de los análisis realizados (Tabla 1).

Tras la aleatorización, se recogieron muestras de sangre y humor acuoso al principio y al final de la intervención en el hospital. Para los controles se extrajo una única muestra de sangre o humor acuoso.

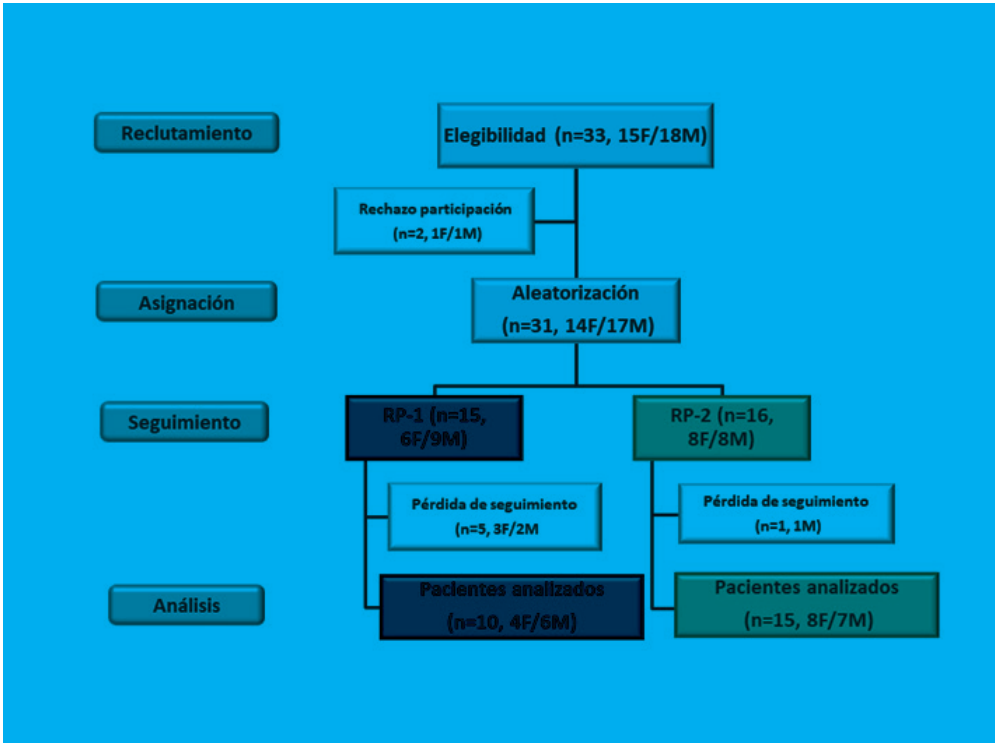


Figura 1. Diagrama de flujo de los participantes. Este fue un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo que evaluó la efectividad de una mezcla de nutracéuticos (NUT) para mejorar el estado redox y la función visual en pacientes con RP. Treinta y un pacientes con RP fueron aleatorizados al grupo NUT (A) o al grupo placebo (PLC) (B), y diariamente recibieron cápsulas con NUT o PLC durante dos años. M: femenino, V: masculino.

Evaluación visual

Se realizó un examen oftálmico completo de ambos ojos al inicio y después de dos años de intervención nutricional, incluyendo exámenes de tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT), respuestas automatizadas de CV y ERG multifocal (mfERG) en el Hospital de Manises entre junio de 2015 y noviembre de 2019.

Muestras de humor acuoso y sangre

Las muestras de sangre se recogieron inicialmente de 33 pacientes con RP y 26 sujetos sanos en tubos heparinizados (plasma) o no heparinizados (suero). La sangre se procesó dentro de las dos horas posteriores a la recolección, centrifugando

durante diez minutos a 800 g o durante cinco minutos a 2000 g para obtener plasma o suero.

El humor acuoso se recogió en condiciones estériles en un quirófano (Servicio de Oftalmología). Se recogieron muestras acuosas de al menos 100 μ L, de cada paciente, colocadas en tubos estériles y alicuotadas.

Ambos tipos de muestras se almacenaron inmediatamente a -80°C hasta su uso.

Determinación de marcadores antioxidantes y oxidantes

El estado redox ocular se evaluó midiendo la capacidad antioxidante total (TAC), las actividades de las enzimas SOD3, CAT y GPx y la formación de CAR (indicador de carbonilación de proteínas) en las muestras de humor acuoso. El estado redox de la sangre se evaluó midiendo los niveles de TAC, actividades de SOD3, CAT y GPx, la formación de CAR, nitritos (producto final estable de NO) y nitratos (NOX) y TBARS (como indicador de peroxidación lipídica) en el plasma. En ambos casos se utilizaron kits comerciales para realizar las determinaciones.

Los niveles de TAC se expresaron como nmol de antioxidantes/mL o proteína/mg; la actividad de SOD3 en U/mL; la actividad de CAT en nmol de formaldehído/minuto.mL; la de GPx en nmol/minuto.mL; los niveles de NOX en nmol/mL y el contenido de CAR en pmol/mL.

Determinación de TNF α e IL6 en sangre

Las concentraciones de IL6 y TNF α se midieron en el suero congelado utilizando sistemas de ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA). Los niveles séricos de TNF α e IL6 se expresaron como pg/ml.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R (versión 2.15.3) (Fundación para la informática estadística, Viena, Austria). Se realizó un enfoque analítico bayesiano para calcular la probabilidad de que la intervención nutricional fuera superior o no, y la probabilidad de que existiera una diferencia clínicamente relevante entre los grupos. No presentamos valores

P (enfoque frecuentista) a excepción de los principales resultados visuales, por lo que las imágenes no deben interpretarse como los resultados del análisis estadístico. El análisis estadístico se muestra en las tablas 2, 3 y 4.

RESULTADOS

Estado redox desequilibrado en pacientes con RP

Se midieron los niveles basales en humor acuoso de las actividades TAC, SOD3, CAT y GPx y CAR, antes de comenzar la suplementación con NUT.

El nivel basal medio de cada parámetro se muestra en la Figura 2 (estadística descriptiva)

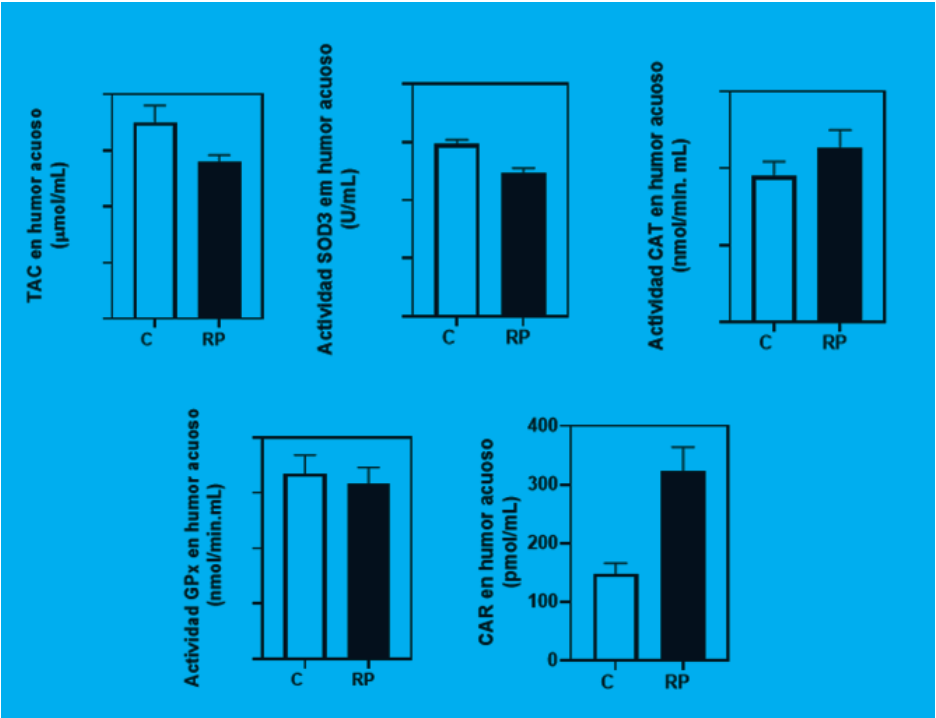


Figura 2. Concentraciones basales de marcadores antioxidantes y oxidantes en humor acuoso de controles y pacientes con RP. El estado redox ocular se determinó midiendo la capacidad antioxidante total (TAC), las actividades extracelulares de superóxido dismutasa (SOD3), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) y el contenido de aductos de carbonilo (CAR) con kits comerciales. Todos los datos se representan en gráficos de barras con barras de error estándar. C: sujetos de control; RP: pacientes con retinosis pigmentaria.

Se realizó un abordaje analítico bayesiano para calcular la probabilidad de una diferencia relevante entre pacientes con RP y controles incluyendo la edad y el género como factores de confusión. En humor acuoso, la probabilidad de que el grupo control tuviera valores más altos de actividad de TAC y SOD3 que el grupo de pacientes fue del 99,9% y 99,7%, respectivamente (Tabla 2). La probabilidad de que el grupo de pacientes tuviera valores superiores al grupo de control fue del 97,6%.

Tabla 2. Análisis bayesiano análisis de estado redox y citoquinas basales en controles y pacientes con RP.

	ES	95 % CrI	Pr de RP<C	ROPE	Pr de RP>C
Estado redox ocular					
TAC	-0.693	-1.115; -0.277	0.999	5*10 ⁻⁴	0.0002
SOD3	-0.757	-1.261; -0.269	0.997	0.002	0.0007
CAT	-0.090	-0.704; 0.526	0.547	0.120	0.334
GPX	-0.028	-0.521; 0.473	0.474	0.144	0.381
CAR	0.68	0.078; 1.283	0.008	0.015	0.976
Estado redox en sangre					
TAC	0.056	-0.022; 0.131	0.041	0.077	0.880
SOD3	-0.151	-0.292; -0.01	0.962	0.029	0.008
CAT	-0.239	-0.513; 0.041	0.902	0.076	0.021

GPX	-0.989	-6.42; 4.488	0.332	0.544	0.123
CAR	-0.007	-0.193; 0.18	0.408	0.247	0.345
TBARS	0.228	-0.099; 0.575	0.445	0.102	0.853
NOX	0.043	-0.601; 0.672	0.319	0.234	0.446
Citoquinas en sangre					
TNF α	0.425	0.22; 0.631	0.000	0.0002	0.999
IL6	-0.263	-0.848; 0.34	0.726	0.151	0.122

ES: Estimación; Crl: intervalo creíble; Pr: Probabilidad; RP: pacientes con retinosis pigmentaria; C: controles; ROPE: Región de equivalencia práctica; TAC: capacidad antioxidante total; SOD3: superóxido dismutasa extracelular; CAT: catalasa; GPX: glutatión peroxidasa; CAR: aductos de carbonilo; TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobutúrico; NOX: nitritos y nitratos.

También se midieron los niveles sanguíneos de TAC, SOD3, CAT y GPX y CAR, TBARS y NOX (Figura 3). En las muestras plasmáticas, la probabilidad de que el grupo control tuviera valores más altos de SOD3 y CAT que el grupo de pacientes fue del 96,2% y 90,2%, respectivamente (Tabla 2). La probabilidad de que el grupo de pacientes tuviera valores más altos de TBARS, o TAC fue relativamente alta (85,3% y 88%, respectivamente).

Estos datos apoyaron la idea de un estado redox ocular desequilibrado y, en menor medida, un estado redox sistémico alterado en pacientes con RP que podría contribuir a la disfunción visual.

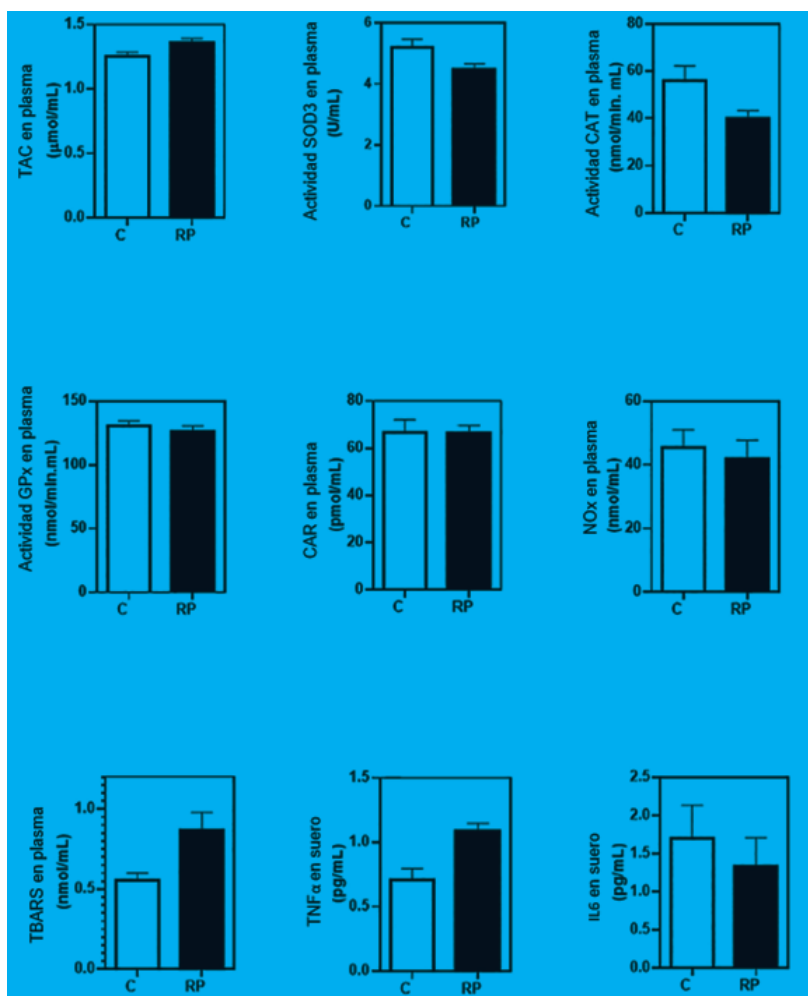


Figura 3. Concentraciones basales de marcadores antioxidantes, oxidantes e inflamatorios en sangre de controles y pacientes con RP. El estado redox periférico se determinó midiendo la capacidad antioxidante total (TAC), las actividades extracelulares de la superóxido dismutasa (SOD3), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx), la peroxidación lipídica (formación de TBARS), los metabolitos de óxido nítrico (NOX), y el contenido de aductos de carbonilo (CAR) con kits comerciales. Las citoquinas séricas se midieron mediante kits comerciales de inmunoanálisis enzimático. Todos los datos se representan en gráficos de barras con barras de error estándar. C: sujetos de control; RP: pacientes con retinosis pigmentaria; TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico; NOX: nitritos y nitratos.

Como se muestra en la Figura 3 (estadística descriptiva) y en la Tabla 2, se detectó un aumento de TNF α con probabilidad muy alta (99,9%) en el grupo de pacientes con RP. No se observaron diferencias en la concentración de IL6.

La suplementación con NUT retrasó la disfunción retiniana en pacientes con RP

Como se muestra en el diagrama de flujo (Figura 1), 31 pacientes con RP fueron finalmente inscritos y asignados al azar al grupo NUT (A) o PLC (B). Seis pacientes abandonaron el estudio debido a la intención del embarazo, las dificultades para recoger las cápsulas cada dos meses o falta de adhesión al tratamiento.

Se analizaron las respuestas mfERG, las imágenes de OCT y los CVs en 62 ojos de 31 pacientes con RP al inicio y 50 ojos de 25 pacientes con RP después de dos años de suplementación nutricional con PLC o NUT (Tabla 3). El análisis solo consideró los datos de los pacientes que terminaron el estudio.

Tabla 3. Análisis bayesiano de la función visual en pacientes con RP después de dos años de la suplementación nutricional

Análisis bayesiano	ES	95% CrI	Pr de PLC<NUT	ROPE	Pr de PLC>NUT	P value
Función visual (ambos ojos)						
P ₁ amplitud						
(Σ Q1-Q4)	-0.180	-0.365; -0.004	0.923	0.071	0.006	0.041
Tiempo implícito mfERG	-0.350	-4.790; 4.140	0.151	0.756	0.093	0.840
CV	-0.139	-0.702; 0.417	0.465	0.396	0.137	0.601
Grosor retina (SD-OCT)	-1.210	-6.480; 4.110	0.037	0.961	0.003	0.305

ES: Estimación; CrI: intervalo creíble; Pr: Probabilidad; RP: pacientes con retinosis pigmentaria; C: controles; ROPE: Región de equivalencia práctica; mfERG: electroretinografía multifocal; CV: campo visual; SD-OCT: tomografía espectral de coherencia óptica.

Dos años después de la suplementación nutricional, los resultados de los mfERG fueron similares a los basales en el grupo NUT, pero empeoraron en el grupo PLC (Tabla 3). Como se muestra en la Tabla 3, la respuesta eléctrica de la retina medida por respuestas mfERG evolucionó peor después de dos años en el grupo PLC que en el grupo NUT con una probabilidad del 92,5% (Tabla 3). No se observó ningún efecto sobre los CV después de la suplementación nutricional con NUT o PLC (Tabla 3).

Los hallazgos de mfERG nos sugieren una estabilización de la enfermedad en el grupo NUT en comparación con el grupo PLC.

La suplementación oral con NUT mejoró el estado redox en pacientes con RP

Evaluamos también el estado redox y la inflamación después de dos años de suplementación. En la Figura 4 se presentan los marcadores oculares de estado redox al inicio y después de dos años de suplementación con NUT o PLC.

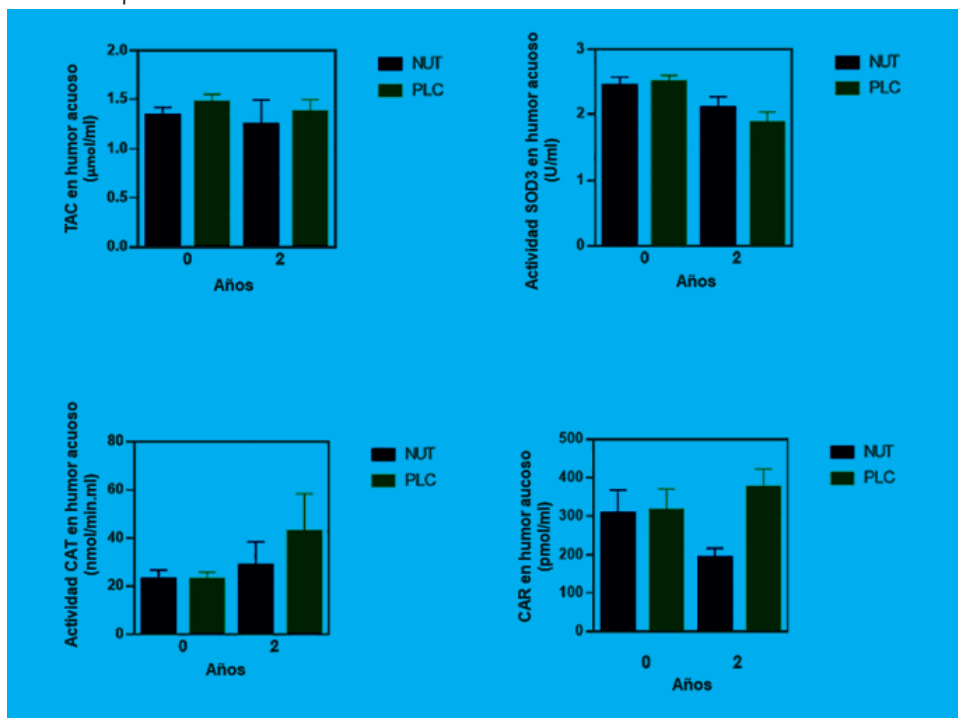


Figura 4. Concentraciones de marcadores antioxidantes, oxidantes e inflamatorios en humor acuoso de los pacientes con RP después de dos años de suplementación. El estado redox ocular se determinó midiendo la capacidad antioxidante total (TAC), la superóxido dismutasa extracelular (SOD3), la catalasa (CAT) y el contenido de aductos de carbonilo (CAR) con kits comerciales. Todos los datos se representan en gráficos de barras con barras de error estándar. NUT: Pacientes con RP que recibieron diariamente una mezcla de nutraceuticos; PLC: Pacientes con RP que recibieron placebo diariamente.

En humor acuoso no se analizó la actividad de GPx debido a una disponibilidad limitada de la muestra en algunos pacientes.

La probabilidad de que el grupo PLC presentara mayor contenido de CAR y mayor actividad de CAT que el grupo NUT en humor acuoso fue del 97,7% y 90,4%, respectivamente (Tabla 4). Además, la probabilidad de que el grupo NUT mostrara valores de actividad SOD3 más altos que el grupo PLC fue del 95,6%. Por lo tanto, estos resultados sugieren que la suplementación con NUT mejoró, al menos en parte, el estado redox ocular desequilibrado observado en pacientes con RP.

Tabla 4. Análisis bayesiano análisis de estado redox y citoquinas basales en controles y pacientes con RP después de dos años de suplementación nutricional.

Análisis bayesiano	ES	95% CrI	Pr de PLC<NUT	ROPE	Pr de PLC>NUT
Estado redox ocular					
TAC	0.163	-0.327; 0.637	0.192	0.109	0.669
SOD3	-0.437	-0.862;-0.007	0.956	0.028	0.012
CAT	0.449	-0.172;1.019	0.045	0.050	0.904
CAR	0.591	0.054;1.139	0.009	0.014	0.977
Estado redox en sangre					
TAC	0.005	-0.091; 0.104	0.371	0.198	0.431
SOD3	0.116	-0.205; 0.445	0.193	0.097	0.709
CAT	-0.183	-0.734; 0.377	0.687	0.106	0.206
GPX	-0.034	-5.370; 5.339	0.167	0.672	0.16
CAR	-0.234	-0.585; 0.122	0.875	0.047	0.077
TBARS	0.037	-0.486; 0.536	0.345	0.183	0.471
NOX	0.487	-0.524; 1.431	0.114	0.084	0.801
Citoquinas en sangre					
TNF α	0.229	-0.268; 0.733	0.145	0.083	0.711
IL6	0.275	-0.312; 0.924	0.102	0.163	0.735

ES: Estimación; CrI: intervalo creible; Pr: Probabilidad; RP: pacientes con retinosis pigmentaria; C: controles; ROPE: Región de equivalencia práctica; TAC: capacidad antioxidante total; SOD3: superóxido dismutasa extracelular; CAT: catalasa; GPX: glutatión peroxidasa; CAR: aductos de carbonilo; TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobutúrico; NOX: nitritos y nitratos.

A nivel sistémico, la suplementación con NUT aumentó la probabilidad de tener mayor contenido de CAR que la suplementación con PLC hasta un 87,5%. Además, la probabilidad de que el grupo PLC tuviera valores de NOX más altos que el grupo NUT era del 80,1% (Tabla 4). Ninguno de los otros marcadores de estrés oxidativo o antioxidante parecía estar afectado por el tratamiento con NUT o PLC en sangre (Figura 5, estadística descriptiva).

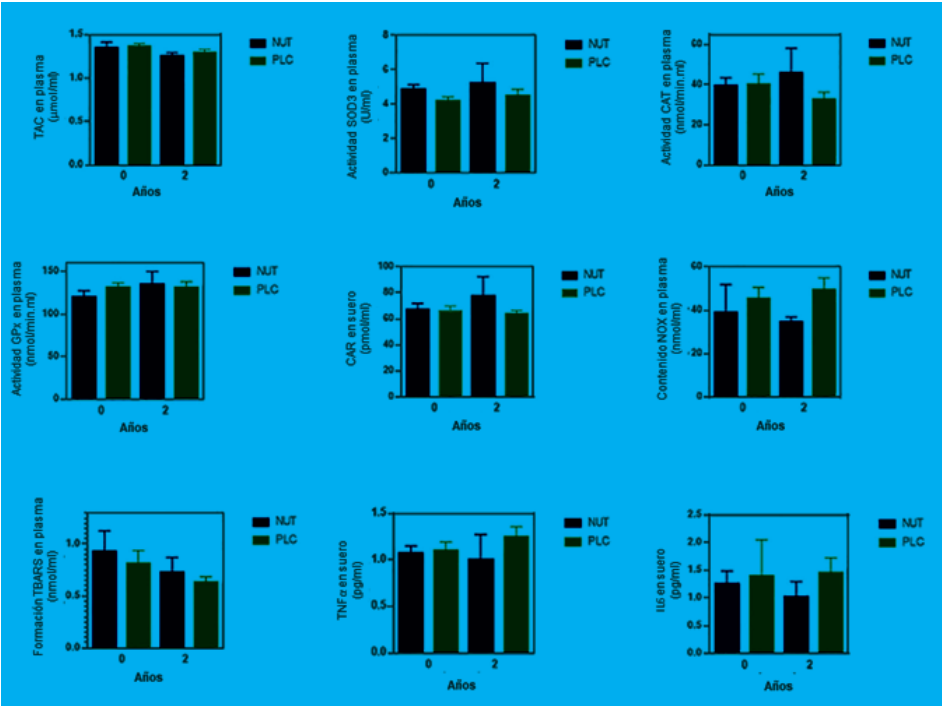


Figura 5. Concentraciones de marcadores antioxidantes, oxidantes e inflamatorios en sangre de pacientes con RP tras dos años de suplementación. El estado redox periférico se determinó midiendo la capacidad antioxidante total (TAC), la superóxido dismutasa extracelular (SOD3), la catalasa (CAT), la peroxidación lipídica (formación de TBARS), los metabolitos de óxido nítrico (NOX) y los aductos de carbonilo (CAR) utilizando kits comerciales. Las citoquinas séricas se midieron mediante kits de inmunoanálisis enzimático. Todos los datos se representan en gráficos de barras con barras de error estándar. NUT: Pacientes con RP que recibieron diariamente una mezcla de nutraceuticos; PLC: Pacientes con RP que recibieron diariamente placebo; TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobarbitúico; NOX: nitritos y nitratos.

Parece también que la suplementación con NUT tiene un ligero impacto en las citoquinas séricas. El contenido de TNF α e IL6 fue mayor en el grupo PLC que en el grupo NUT con una probabilidad del 71,1% y el 73,5%, respectivamente (tabla 4).

DISCUSIÓN

La RP abarca un grupo heterogéneo de distrofias de retina hereditarias caracterizadas por degeneración progresiva de los fotorreceptores que resulta en discapacidad visual e incluso ceguera. Varios estudios sugieren que el estrés oxidativo podría influir negativamente en la progresión de RP.

Previamente mostramos un estado redox alterado en muestras biológicas de pacientes con RP [11]. En este estudio, evaluamos algunas moléculas antioxidantes (TAC y SOD3) y oxidantes (TBARS y nitrotirosina) en humor acuoso o sangre de pacientes con RP y controles. Los hallazgos sugirieron un estado redox desequilibrado en los pacientes con RP. Campochiaro y col. Mostraron la presencia de estrés oxidativo ocular con una reducción de la relación entre glutatión reducido y oxidado (GSH/GSSG), y un aumento de carbonilación proteica (CAR) en humor acuoso de pacientes con RP [12]. Más recientemente, Murakami y col. mostraron una menor actividad de SOD3 en pacientes con RP con degeneración severa que en aquellos con degeneración leve. También sugirieron una relación negativa entre la actividad de SOD3 y la agudeza visual [28].

En el presente estudio, se confirmó un estado redox alterado con menor respuesta antioxidante (TAC y SOD3) y mayor carbonilación proteica (contenido de CAR) en humor acuoso de pacientes con RP. Se observaron alteraciones sistémicas en la respuesta antioxidante incluyendo menor actividad de SOD3 y CAT y mayor daño oxidativo (formación de TBARS) en los pacientes con RP que en los controles. Sin embargo, no observamos valores sistémicos más bajos de TAC o más altos de CAR en los pacientes con RP. Las diferencias en los valores de TAC ocular y sistémico podrían deberse a diferencias en la composición antioxidante en estos fluidos.

La carbonilación de las proteínas es una modificación oxidativa irreversible y dañina que se considera una característica importante del daño oxidativo. La CAR se genera por oxidación catalizada por metales, peroxidación lipídica o glicación [29] y tiene efectos negativos en las funciones catalíticas de las enzimas [30].

Hondur y col. mostraron mayores niveles de CAR en sangre y humor acuoso de personas con glaucoma que en controles [31]. Sin embargo, Campochiaro y col. mostraron niveles altos de CAR en humor acuoso de pacientes con RP y ningún cambio en sangre en comparación con los controles, como observamos en el presente estudio [12]. La RP es una enfermedad ocular por lo que esperábamos biomarcadores relacionados con el estrés oxidativo más prominentes en humor acuoso que en sangre. La representación de proteínas oculares y otros marcadores dentro del conjunto de proteínas sanguíneas es muy limitada. Por lo tanto, no es de extrañar que no hayamos observado altos niveles de CAR en el suero de pacientes con RP.

Observamos niveles séricos elevados de $\text{TNF}\alpha$ en pacientes con RP que sugieren una inflamación periférica. Hemos descrito previamente un aumento de esta citoquina en humor acuoso de los pacientes con RP [32]. Otros autores también han detectado aumentos de marcadores inflamatorios sanguíneos en pacientes con RP. Por ejemplo, la proteína C reactiva sérica de alta sensibilidad, IL8 y RANTES se encontraron elevadas en sangre de pacientes con RP [33, 34]. Estos hallazgos sugieren que la RP promueve no solo la respuesta inflamatoria ocular sino también periférica.

Tomando en conjunto los hallazgos anteriores en humanos y modelos preclínicos, nos planteamos realizar una intervención nutricional con una mezcla de nutraceuticos con propiedades antioxidantes llamadas NUT en pacientes con RP.

El daño oxidativo y la inflamación están presentes no solo en la RP, sino también en otras enfermedades de la retina como la DMAE o la retinopatía diabética. El uso de compuestos, como nutraceuticos con propiedades antioxidantes/antiinflamatorias es un enfoque muy atractivo para el tratamiento de estas enfermedades de la

retina. Diferentes formulaciones nutracéuticas fueron ensayadas en modelos animales, así como sujetos humanos [35, 36], mostrando efectos neuroprotectores en enfermedades como la retinopatía diabética, DMAE o RP [24, 25, 37-41].

Recientemente, hemos demostrado que la administración oral de NUT fue capaz de mejorar la función retiniana, el estado redox y la inflamación en las retinas de un modelo autosómico recesivo de RP, el ratón rd10 [26]. En particular, la administración de NUT mejoró las respuestas de ERG, aumentó la TAC, la actividad de SOD1 y disminuyó la formación de TBARS a día postnatal 18, primer pico de degeneración retiniana en este modelo. Además, la suplementación con NUT redujo la inflamación de la retina, incluyendo la gliosis reactiva, la activación de microglía y de las citoquinas pro-inflamatorias IL6 e IL1 β [26].

En el presente estudio, se evaluó el efecto de la suplementación con NUT sobre la función visual, el estado redox y la inflamación. Las respuestas de mfERG reflejaron que los pacientes que recibieron PLC tuvieron peor respuesta eléctrica que los que recibieron NUT. Sin embargo, no se observaron diferencias en los CVs ni en el análisis de SD-OCT. La RP es una enfermedad degenerativa y las respuestas mfERG disminuyen a lo largo de su progresión. Por lo tanto, no esperábamos una mejora, sino un retraso en la reducción de las respuestas mfERG después de la suplementación. Nuestros resultados sugieren que la suplementación con NUT redujo el empeoramiento de la respuesta eléctrica de la retina después de dos años. La técnica mfERG es una medida objetiva en estudios de tratamiento que involucran pacientes con retinopatías como RP.

Tradicionalmente las pruebas para seguir la progresión de la función visual durante la RP incluyen agudeza visual (AV), Ganzfeld ERG o mfERG y CVs [42]. Mientras que la pérdida concéntrica de CV es más progresiva, la pérdida de AV disminuye gradualmente con la edad en los pacientes. Sin embargo, estas pruebas presentan una alta subjetividad, baja fiabilidad y mayor variabilidad a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad [43].

No observamos un efecto beneficioso del tratamiento sobre el espesor macular medido por SD-OCT. El SD-OCT es un método bien establecido que ayuda a evaluar los cambios morfológicos relacionados con la función retiniana en pacientes con RP [44]. Podríamos esperar un deterioro funcional, pero no cambios morfológicos significativos después de dos años de suplementación con NUT. Creemos que se necesitaría un seguimiento más largo para detectar las diferencias en el CV o cambios estructurales por SD-OCT.

Otros nutracéuticos también han mostrado una mejora en la función retiniana de pacientes con RP o modelos animales [23, 45-47]. En este trabajo, después de dos años de suplementación, la disminución de la actividad de SOD3 ocular fue menor en los pacientes que recibieron NUT que en los que recibieron PLC. Además, la suplementación con NUT mejoró la formación de CAR en humor acuoso y tendió a reducir la concentración de las citoquinas séricas IL6 y TNF α . No sabemos cómo la mezcla nutracéutica redujo el CAR en humor acuoso; creemos que podría actuar como eliminador de radicales libres o como modulador de otros sistemas antioxidantes celulares. Quizás la reducción de la carbonilación proteica fue responsable de una mejor actividad de SOD3 en el humor acuoso de los pacientes tratados con NUT.

La mejora en el estado redox y/o inflamación después de la suplementación nutracéutica también ha sido descrita previamente. Por ejemplo, la suplementación con azafrán o ácido elágico, mejora la respuesta antioxidante sistémica (TAC, y actividades SOD y GPx) en pacientes con colitis ulcerosa o con diabetes tipo 2, respectivamente [48, 49]. La suplementación con vitamina D o ácido alfa lipoico aumentó la respuesta antioxidante (actividades de SOD y/o GPx, y CAT) y redujo el daño oxidativo (MDA) en pacientes de hemodiálisis [50, 51]. La suplementación con dosis altas de DHA mostró efectos beneficiosos para pacientes con retinopatía diabética, glaucoma y edema macular [52] [53]. En la retinopatía diabética la combinación de DHA con xantofilas aumentó el TAC, la función macular y redujo la IL6 [54].

En nuestro estudio, la suplementación con NUT tuvo un menor impacto en el estado redox de la sangre; parece reducir los

metabolitos NO (NOX) pero aumenta el contenido de CAR en la sangre, hecho que no podemos explicar.

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. Por ejemplo, observamos una tasa relativamente alta de desgaste, aumentando así el potencial de sesgo en nuestros análisis. Somos conscientes del pequeño tamaño muestral de este estudio y que esta limitación podría afectar la precisión de las estimaciones de nuestros modelos (pero no la validez de nuestros resultados). Sin embargo, destacamos que la suplementación con NUT logró mejores respuestas eléctricas a los estímulos de luz (respuestas mfERG) en la retina que la suplementación con PLC. En conjunto, la evidencia de este estudio sugiere que la suplementación con NUT podría ser útil para proteger la retina de la degeneración retiniana al ralentizar la disfunción visual y mejorar el estado redox desequilibrado en pacientes con RP. Sin embargo, estudios adicionales con más participantes, otros marcadores redox y un período de seguimiento más largo ayudarían a confirmar estos hallazgos.

REFERENCIAS

- 1.Corton, M., et al., Identification of a novel mutation in the human PDE6A gene in autosomal recessive retinitis pigmentosa: homology with the nmf28/nmf28 mice model. Clin Genet, 2010. 78(5): p. 495-8.
- 2.Portera-Cailliau, C., et al., Apoptotic photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. 91(3): p. 974-8.
- 3.Rivas, M.A. and E. Vecino, Animal models and different therapies for treatment of retinitis pigmentosa. Histol Histopathol, 2009. 24(10): p. 1295-322.
- 4.Daiger, S., Sullivan, L. & Bowne, S. Retinal Information Network. 1996-2014; Available from: <http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet>.
- 5.Campochiaro, P.A. and T.A. Mir, The mechanism of cone cell death in Retinitis Pigmentosa. Prog Retin Eye Res, 2018. 62: p. 24-37.
- 6.Komeima, K., et al., Antioxidants reduce cone cell death in a model of retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103(30): p. 11300-5.
- 7.Shen, J., et al., Oxidative damage is a potential cause of cone cell death in retinitis pigmentosa. J Cell Physiol, 2005. 203(3): p. 457-64.

- 8.Usui, S., et al., NADPH oxidase plays a central role in cone cell death in retinitis pigmentosa. *J Neurochem*, 2009. 110(3): p. 1028-37.
- 9.Yu, D.Y. and S.J. Cringle, Retinal degeneration and local oxygen metabolism. *Exp Eye Res*, 2005. 80(6): p. 745-51.
- 10.Ahuja-Jensen, P., et al., Low glutathione peroxidase in rd1 mouse retina increases oxidative stress and proteases. *Neuroreport*, 2007. 18(8): p. 797-801.
- 11.Martínez-Fernández de la Cámara, C., et al., Altered antioxidant-oxidant status in the aqueous humor and peripheral blood of patients with retinitis pigmentosa. *PLoS One*, 2013. 8(9): p. e74223.
- 12.Campochiaro, P.A., et al., Is There Excess Oxidative Stress and Damage in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa? *Antioxid Redox Signal*, 2015. 23(7): p. 643-8.
- 13.Ertan, E., et al., Thiol/disulfide homeostasis in retinitis pigmentosa patients. *Eur J Ophthalmol*, 2021. 31(2): p. 572-577.
- 14.Nishiguchi, K.M., et al., Gene therapy restores vision in rd1 mice after removal of a confounding mutation in Gpr179. *Nature Communications*, 2015. 6(1): p. 6006.
- 15.Olivares-González, L., et al., HIF-1 α stabilization reduces retinal degeneration in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Faseb j*, 2018. 32(5): p. 2438-2451.
- 16.Martínez-Fernández de la Cámara, C., et al., Phosphodiesterase inhibition induces retinal degeneration, oxidative stress and inflammation in cone-enriched cultures of porcine retina. *Exp Eye Res*, 2013. 111: p. 122-33.
- 17.Olivares-González, L., et al., Retinal Inflammation, Cell Death and Inherited Retinal Dystrophies. 2021. 22(4).
- 18.Ghosh, S., et al., Nutraceutical regulation of miRNAs involved in neurodegenerative diseases and brain cancers. *Heliyon*, 2021. 7(6): p. e07262.
- 19.Valero-Vello, M. and C. Peris-Martínez, Searching for the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Neuroprotective Potential of Natural Food and Nutritional Supplements for Ocular Health in the Mediterranean Population. 2021. 10(6).
- 20.Tsang, J.K.W., et al., Potential Effects of Nutraceuticals in Retinopathy of Prematurity. 2021. 11(2).
- 21.Alfonso-Muñoz, E.A. and R. Burggraaf-Sánchez de Las Matas, Role of Oral Antioxidant Supplementation in the Current Management of Diabetic Retinopathy. 2021. 22(8).
- 22.AREDS, A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related

cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Arch Ophthalmol*, 2001. 119(10): p. 1439-52.

23.Piano, I., et al., A Nutraceutical Strategy to Slowing Down the Progression of Cone Death in an Animal Model of Retinitis Pigmentosa. *Front Neurosci*, 2019. 13: p. 461.

24.Lem, D.W., D.L. Gierhart, and P.G. Davey, A Systematic Review of Carotenoids in the Management of Diabetic Retinopathy. 2021. 13(7).

25.Lem, D.W., et al., A Systematic Review of Carotenoids in the Management of Age-Related Macular Degeneration. 2021. 10(8).

26.Olivares-González, L., et al., Nutraceutical Supplementation Ameliorates Visual Function, Retinal Degeneration, and Redox Status in rd10 Mice. 2021. 10(7).

27.Nair, A.B. and S. Jacob, A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm*, 2016. 7(2): p. 27-31.

28.Ishizu, M., et al., Relationships Between Serum Antioxidant and Oxidant Statuses and Visual Function in Retinitis Pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019. 60(13): p. 4462-4468.

29.Fedorova, M., R.C. Bollineni, and R. Hoffmann, Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. *Mass Spectrom Rev*, 2014. 33(2): p. 79-97.

30.Dean, R.T., et al., Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*, 1997. 324 (Pt 1)(Pt 1): p. 1-18.

31.Hondur, G., et al., Oxidative Stress-Related Molecular Biomarker Candidates for Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017. 58(10): p. 4078-4088.

32.Martinez-Fernandez de la Camara, C., et al., Infliximab reduces Zaprinas-induced retinal degeneration in cultures of porcine retina. *J Neuroinflammation*, 2014. 11: p. 172.

33.Murakami, Y., et al., C-Reactive protein and progression of vision loss in retinitis pigmentosa. *Acta Ophthalmol*, 2018. 96(2): p. e174-e179.

34.Okita, A., et al., Changes of Serum Inflammatory Molecules and Their Relationships with Visual Function in Retinitis Pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020. 61(11): p. 30.

35.Rossino, M.G. and G. Casini, Nutraceuticals for the Treatment of Diabetic Retinopathy. *Nutrients*, 2019. 11(4).

36.Jia, Y.P., et al., The Pharmacological Effects of Lutein and Zeaxanthin on Visual Disorders and Cognition Diseases. *Molecules*, 2017. 22(4).

37.Majeed, M., S. Majeed, and K. Nagabhushanam, An Open-Label Pilot Study on Macumax Supplementation for Dry-Type Age-Related Macular Degeneration. *J Med Food*, 2021. 24(5): p. 551-557.

38.Fernandez-Gonzalez, P., A. Mas-Sanchez, and P. Garriga, Polyphenols and Visual Health: Potential Effects on Degenerative Retinal Diseases. 2021. 26(11).

39.Neelam, K., et al., Fructus lycii: A Natural Dietary Supplement for Amelioration of Retinal Diseases. 2021. 13(1).

40.Franzone, F., et al., Anti-inflammatory role of curcumin in retinal disorders (Review). *Exp Ther Med*, 2021. 22(1): p. 790.

41.Valdés-Sánchez, L., et al., The Resveratrol Prodrug JC19 Delays Retinal Degeneration in rd10 Mice. *Adv Exp Med Biol*, 2019. 1185: p. 457-462.

42.Grover, S., et al., Rate of visual field loss in retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, 1997. 104(3): p. 460-5.

43.Cabral, T., et al., Retrospective Analysis of Structural Disease Progression in Retinitis Pigmentosa Utilizing Multimodal Imaging. *Sci Rep*, 2017. 7(1): p. 10347.

44.Matsuo, T. and N. Morimoto, Visual acuity and perimacular retinal layers detected by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol*, 2007. 91(7): p. 888-90.

45.Chan, H.H., et al., Delay of cone degeneration in retinitis pigmentosa using a 12-month treatment with Lycium barbarum supplement. *J Ethnopharmacol*, 2019. 236: p. 336-344.

46.Dagnelie, G., I.S. Zorge, and T.M. McDonald, Lutein improves visual function in some patients with retinal degeneration: a pilot study via the Internet. *Optometry*, 2000. 71(3): p. 147-64.

47.Yu, M., W. Yan, and C. Beight, Lutein and Zeaxanthin Isomers Reduce Photoreceptor Degeneration in the Pde6b (rd10) Mouse Model of Retinitis Pigmentosa. *Biomed Res Int*, 2018. 2018: p. 4374087.

48.Tahvilian, N., et al., Effects of saffron supplementation on oxidative/antioxidant status and severity of disease in ulcerative colitis patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. 2021. 35(2): p. 946-953.

49.Ghadimi, M., et al., Randomized double-blind clinical trial examining the Ellagic acid effects on glycemic status, insulin resistance, antioxidant, and inflammatory factors in patients with type 2 diabetes. 2021. 35(2): p. 1023-1032.

50.Malekmakan, L., et al., Role of vitamin D in oxidative stress modulation in end-stage renal disease patients: A double-blind randomized clinical trial. *Hemodial Int*, 2020. 24(3): p. 367-373.

51.Mahdavi, R., T. Khabbazi, and J. Safa, Alpha lipoic acid supplementation improved antioxidant enzyme activities in hemodialysis patients. *Int J Vitam Nutr Res*, 2019. 89(3-4): p. 161-167.

52.Lafuente, M., et al., Antioxidant Activity and Neuroprotective Role of Docosahexaenoic Acid (DHA) Supplementation in Eye Diseases That Can Lead to Blindness: A Narrative Review. 2021. 10(3).

53.Romeo Villadóniga, S., et al., Effects of Oral Supplementation with Docosahexaenoic Acid (DHA) plus Antioxidants in Pseudoexfoliative Glaucoma: A 6-Month Open-Label Randomized Trial. *J Ophthalmol*, 2018. 2018: p. 8259371.

54.Rodríguez González-Herrero, M.E., et al., Supplementation with a highly concentrated docosahexaenoic acid plus xanthophyll carotenoid multivitamin in nonproliferative diabetic retinopathy: prospective controlled study of macular function by fundus microperimetry. *Clin Ophthalmol*, 2018. 12: p. 1011-1020.

EL PAPEL DE LAS ASOCIACIONES DE PACIENTES

Carmen Gómez Navarro

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la atención centrada en las personas incorpora la visión y perspectivas de las personas que padecen una enfermedad o discapacidad, a sus cuidadores, familiares y las comunidades en la que reciben ese cuidado (WHO, 2007), por lo que no sólo se remite a los aspectos clínicos como en la atención centrada en el paciente,, sino que tiene en cuenta la salud de las personas y comunidades y su papel y participación en la definición de políticas y servicios de salud (WHO, 2016).

Nadie conoce mejor los efectos de una condición de salud que la persona que la vive, su familia y su entorno. De ahí que las asociaciones de pacientes se constituyan como una herramienta efectiva y positiva para promover cambios importantes a nivel de salud y de políticas sanitarias.

La interacción entre administraciones públicas, gestores de recursos sociosanitarios, profesionales y pacientes es fundamental para ofrecer una atención integral y de calidad al paciente, pero también para el mantenimiento de los propios recursos y los avances en la investigación e intervención clínica.

La participación de los pacientes y sus representantes se transforma en una estrategia fundamental para avanzar hacia una atención centrada en las personas y se reconoce como parte de los esfuerzos para transformar los sistemas de salud en el mundo (Sharma AE y Grumbach, K, 2017 en Burgos, González, Houghton, Arrighi, Sureda, 2018, pg. 6)

Diseño de las investigaciones con perspectiva del paciente

La participación de los pacientes y de las asociaciones de pacientes debería incluirse como una participación real y comprometida en comités asesores, paneles de expertos y grupos de trabajo que desarrollen directrices clínicas o políticas de salud.

La inclusión de las voces de los pacientes garantiza que las decisiones tomadas reflejan las necesidades y preocupaciones reales de las personas a las que afectarán. En ningún caso, la participación debe limitarse a una intervención meramente formal o instrumental.

Los estudios clínicos son inviables sin la participación comprometida de los pacientes y, en este sentido, las asociaciones pueden colaborar en proyectos de investigación, favoreciendo la inclusión de pacientes y favoreciendo el cumplimiento de las necesidades y preocupaciones de estos. Además de la participación de pacientes en estudios clínicos, las asociaciones tienen un destacado papel en la identificación de áreas de investigación prioritarias desde la perspectiva del paciente y la colaboración en la difusión de los resultados de la investigación.

Defensa de derechos

Las asociaciones de pacientes desempeñan un papel importante en la defensa de los derechos y la promoción de los intereses de los pacientes. Colaboran con las autoridades sanitarias para garantizar que se respeten los derechos de los pacientes, como el acceso a una atención de calidad, la información adecuada sobre su enfermedad y opciones de tratamiento, así como la participación en decisiones que afecten a su salud. También pueden colaborar en la promoción de políticas de salud específicas que mejoren la atención y el bienestar de los pacientes

Políticas públicas

es fundamental la contribución de las asociaciones de pacientes en el desarrollo y la revisión de políticas de salud. Las asociaciones de pacientes pueden aportar su experiencia y conocimiento sobre las necesidades y preocupaciones de los pacientes, así como sugerir mejoras en la planificación y provisión de servicios de salud. Esta colaboración asegura que las políticas estén alineadas con las necesidades reales de los pacientes promoviendo su bienestar al ser atendidas sus necesidades.

las asociaciones están en la mejor disposición para apoyar la implementación de programas de salud, favoreciendo su diseño e implantación juntamente con las administraciones sanitarias, colaborando en la difusión de información, la sensibilización de la comunidad y la movilización de recursos para garantizar que los programas lleguen a la mayor cantidad posible de personas. Además, pueden proporcionar retroalimentación valiosa sobre la efectividad de los programas ayudando a identificar áreas de mejora.

Los pacientes, especialmente aquellos que padecen enfermedades crónicas o de alto impacto económico, son precisamente los primeros interesados en garantizar una sostenibilidad en el largo plazo, ya que son los que necesitan los recursos sanitarios con mayor intensidad a lo largo del tiempo.

Al invertir en programas de prevención y promoción, se puede reducir la carga de enfermedades evitables y promover estilos de vida saludables, lo que a su vez disminuye la demanda de servicios médicos costosos a largo plazo. La promoción de la salud y la educación sobre hábitos saludables pueden ayudar a prevenir enfermedades crónicas, disminuir la incidencia de enfermedades infecciosas y fomentar una población más saludable en general.

Campañas de visibilidad y sensibilización

Con el objetivo de incrementar su visibilidad y concienciar sobre la importancia de fomentar la investigación en torno a las enfermedades de los pacientes con enfermedades raras visuales, las entidades de pacientes ponen en marcha campañas de visibilización y de sensibilización.

organización de eventos educativos, la creación de materiales informativos, campañas de sensibilización sobre enfermedades específicas, promoción de estilos de vida saludables y la difusión de información sobre programas y servicios disponibles para los pacientes.

Captación de fondos

La captación de fondos, también llamada en inglés fundraising, es una actividad realizada por organizaciones sin ánimo de lucro para obtener financiación en el desarrollo de sus actividades o proyectos con el objetivo de asegurar su sostenibilidad en el tiempo.

Esta captación de fondos y búsqueda de inversores no tiene por qué estar dirigida hacia una actividad desarrollada por la propia entidad, sino que en la búsqueda de dar cumplimiento a los fines y objetivos de la misma se puede destinar hacia el mantenimiento de una actividad desarrollada por otra entidad, como puede ser la búsqueda de fondos para sufragar o apoyar una investigación externa.

Para ello, la organización debe aportar valor a la sociedad y mejorar las condiciones de vida de sus beneficiarios y no estar destinadas sus actividades y fines exclusivamente a sus asociados.

El primer paso es tener una buena comunicación, crear una identidad visual, una página web atractiva y accesible, presencia en redes sociales y eventos de interés en el área de los pacientes. De esta manera te harás ver entre los stakeholders de tu área.

Por último, la transparencia y el reporte de las buenas actuaciones llevadas a cabo ante la sociedad, y ante los donantes, permitirá asegurar la buena administración, la profesionalidad y el alcance de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

Burgos, M., Gonzalez, A. R., Houghton, N., & Arrighi, E. (2018). Las asociaciones de pacientes como promotores de la atención centrada en las personas en América Latina. Recuperado de enlace del documento [https://www.iapo.org.uk/sites/default/files/files/White%20Paper_REFASAL_FINAL_Espanol_18APR2018%20\(1\)\(1\).pdf](https://www.iapo.org.uk/sites/default/files/files/White%20Paper_REFASAL_FINAL_Espanol_18APR2018%20(1)(1).pdf)

WHO (2007). People-Centred Health Care: A policy framework. Disponible en: http://www.wpro.who.int/health_services/people_at_the_centre_of_care/documents/ENGPCIPolicyFramework.pdf?ua=1

WHO (2016). WHO Framework on Integrated People-Centered Health Services. Disponible en: <http://www.who.int/servicedeliverysafety/areas/people-centred-care/framework/en>

PATROCINAN



COLABORAN

