



Trabajo Fin de Grado

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Beatriz Esquivel Carrera

Doble Grado en Farmacia y Óptica y Optometría

Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

6 de junio 2023



TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Autora: Beatriz Esquivel Carrera

Tutora: María de Lourdes Moreno Amador

Departamento: Microbiología y Parasitología

Área: Microbiología

Tipología: Revisión bibliográfica

RESUMEN

La terapia génica es una técnica terapéutica en la que se realiza una transferencia de material genético a las células de un individuo con el fin de restablecer una función celular defectuosa, introducir una nueva función o bien interferir con una función existente, y tiene aplicación en las enfermedades monogénicas. Dado que muchas enfermedades oculares tienen su origen en defectos genéticos y que los tratamientos farmacológicos convencionales no son efectivos, la terapia génica ha sido una ventana de esperanza para muchas enfermedades. Este tipo de enfermedades suelen ser graves, crónicas, progresivas, discapacitantes y producen una reducción parcial o una pérdida total de la visión. La aplicación de la terapia génica en el ojo tiene como ventaja el fácil acceso al mismo, el pequeño tamaño de la retina, la presencia de la barrera hematorretiniana que proporciona inmunidad ocular y la posibilidad de tratar un solo ojo y establecer el otro como control en seguridad y eficacia ya que las enfermedades retinianas suelen ser bilaterales y simétricas.

El objetivo de esta revisión bibliográfica es el análisis de la evidencia científica de la efectividad de la terapia génica en las enfermedades oculares y la evaluación del potencial y las expectativas de futuro para esta novedosa rama terapéutica. En esta revisión se describen tanto los tipos de terapia génica según el método de administración como los métodos de transferencia de genes con el fin de comprender los estudios en los que se ha aplicado la terapia génica en enfermedades oculares hereditarias y adquiridas.

Las enfermedades oculares incluidas en esta revisión se han clasificado según afectan al polo posterior del ojo, al polo anterior y, a su vez, se han dividido en hereditarias y adquiridas. Se han revisado los artículos y ensayos clínicos existentes relativos a la retinosis pigmentaria, la enfermedad de Stargardt, la amaurosis congénita de Leber y la coroideremia dentro de las hereditarias. Por su parte, en las adquiridas se ha estudiado la degeneración macular asociada a la edad. En relación con las enfermedades que afectan al polo anterior, se han revisado los ensayos clínicos relativos a la neovascularización corneal, el glaucoma, la mucopolisacaridosis, la queratitis herpética, el ojo seco y las distrofias corneales.

Los ensayos realizados hasta la fecha se presumen prometedores, ya que en todos existe buena tolerancia y seguridad por lo que parece ser una técnica con éxito en el futuro. Sin embargo, es importante resolver aún temas relacionados con el costo y el acceso a estas terapias.

Palabras claves: Terapia Génica, Enfermedades Oculares, Polo Anterior del Ojo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Definición y tipos de terapia génica	3
1.2 Estrategias de la terapia génica	3
1.3 Técnicas de transferencia de genes	4
1.3.1 Métodos físicos	5
1.3.2 Métodos químicos	5
1.3.3 Métodos biológicos	5
1.4 Terapia génica en el ojo	7
1.4.1 El ojo como diana en la terapia génica	7
1.4.2 Metodologías y vectores empleados en la terapia génica en el ojo	8
1.4.3 Coste y accesibilidad de la terapia génica en España	8
2. OBJETIVOS	10
3. METODOLOGÍA	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1 Polo posterior del ojo	11
4.1.1 Distrofias retinianas hereditarias	11
4.1.1.1 Retinosis pigmentaria	11
4.1.1.2 Enfermedad de Stargardt	15
4.1.1.3 Amaurosis congénita de Leber	16
4.1.1.4 Coroideremia	19
4.1.2 Enfermedades retinianas adquiridas	21
4.1.2.1 Degeneración macular asociada a la edad	21
4.2 Polo anterior del ojo	24
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	26

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- A2E:** N-retinilideno-N-retiniletanolamina
- AAV:** Virus adenoasociado
- ABCA4:** Transportador de casetes de ATP subfamilia A miembro 4
- ADN:** Ácido desoxirribonucleótico
- ARN:** Ácido ribonucleico
- ARNi:** ARN de interferencia
- ARNip:** ARN de interferencia pequeño
- ARNm:** ARN mensajero
- ATP:** Adenosín trifosfato
- Cas9:** Sistema asociado a CRISPR
- CD59:** Complejo de ataque a la membrana
- CEP290:** Proteína centrosomal 290
- CFI:** Sistema del complemento
- CHM:** Coroideremia
- CNTF:** Factor neurotrófico derivado de ciliar
- CRISPR:** Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas
- GUCY2D:** Guanilato ciclasa 2D
- DMAE:** Degeneración macular asociada a la edad
- EMA:** Agencia Europea de Medicamentos
- FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos
- Kb:** Kilobase
- LCA:** Amaurosis congénita de Leber
- LV:** Lentivirus
- ND:** No determinado
- PLGA:** Poliácido láctico-co-glicólico
- REP-1:** Proteína rab escort 1
- RHO:** Rodopsina
- RP:** Retinosis pigmentaria
- RPE65:** Isomerohidrolasa retinoide
- RPGR:** Gen regulador de la GTPasa
- STGD:** Enfermedad de Stargardt
- VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de la terapia génica	1
Figura 2. Diferencias entre las terapias <i>ex vivo</i> e <i>in vivo</i>	2
Figura 3. Esquema de la estrategia del silenciamiento de genes	3
Figura 4. Esquema de la estrategia del reemplazo de genes	3
Figura 5. Esquema de la estrategia de la edición de genes usando CRISPR/Cas9	4
Figura 6. Métodos de transferencia de genes	4
Figura 7. Proceso de la visión	7

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de vectores biológicos	6
Tabla 2. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la retinosis pigmentaria	13
Tabla 3. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la enfermedad de Stargardt de administración subretiniana	16
Tabla 4. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la amaurosis congénita de Leber llevados a cabo por administración subretiniana	18
Tabla 5. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la coroideremia mediante administración subretiniana cuyo mecanismo de acción consiste en la codificación de la proteína REP-1	20
Tabla 6. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la degeneración macular húmeda asociada a la edad	22
Tabla 7. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para degeneración macular seca asociada a la edad	24
Tabla 8. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para algunas enfermedades del polo anterior del ojo	25

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Definición y tipos de terapia génica

La terapia génica se define como una técnica terapéutica mediante la cual se realiza la inserción, eliminación o corrección de cualquier gen mutado actuando sobre la célula o tejido diana y a través de un vector con el objetivo de tratar enfermedades monogénicas (**Figura 1**) (Ducloyer *et al.*, 2020).

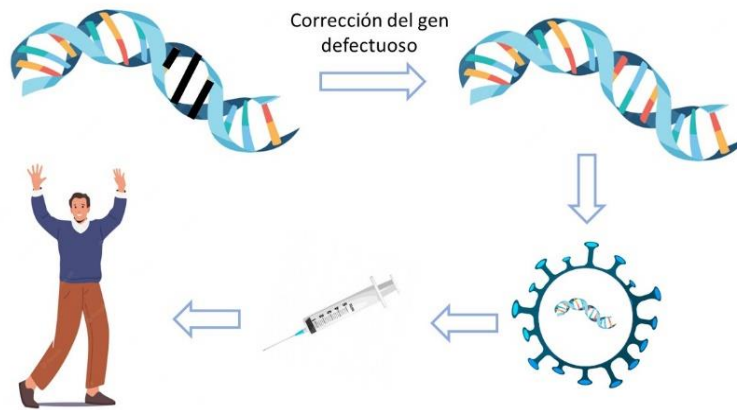


Figura 1. Esquema del proceso de la terapia génica (elaboración propia).

El primer éxito con dicha técnica se obtuvo en la década de los 80, y desde ese momento se han ido incrementando los logros en el tratamiento de enfermedades genéticas o adquiridas. Entre las enfermedades genéticas que se han beneficiado de la terapia génica se pueden citar la distrofia muscular de Duchenne, la fibrosis quística, la hipercolesterolemia familiar, el albinismo, la hemofilia o la fenilcetonuria. Con relación a las enfermedades adquiridas se encuentran el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la artritis reumatoide y la diabetes mellitus, entre otras (Rashid *et al.*, 2020).

Las ventajas que proporciona esta técnica son obvias, sin embargo, presenta una serie de limitaciones que restringen su uso y que pueden no ser fácilmente deducidas. Entre ellas se encuentran la seguridad y el escaso conocimiento acerca de las enfermedades a nivel de ADN. Además, el empleo de vectores virales puede conllevar a reacciones inmunológicas que podrían causar reacciones anafilácticas, fallos orgánicos y la muerte. Algunos incluso podrían activar oncogenes y favorecer el desarrollo de ciertos tipos de cánceres (Shirley *et al.*, 2020; Butt *et al.*, 2022).

Para llevar a cabo la transferencia de genes es necesario recurrir al uso de vectores ya

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

que no se puede hacer directamente con ADN debido a que este es hidrofílico y por su gran tamaño, por lo que resultaría imposible el paso a través de membranas biológicas. Asimismo, la carga negativa de los grupos fosfato del ADN imposibilitaría el paso sin ayuda de transportadores. No obstante, si pudiera atravesar las membranas, el ADN sería fragmentado por las enzimas nucleasas (Sayed *et al.*, 2022).

Existen diferentes tipos de terapia génica dependiendo del tipo de células a las que se aplique: terapia génica somática y germinal. En el caso de la terapia génica somática, afecta a las células somáticas como son los fibroblastos, las células gliales, las neuronas y las células epiteliales, entre otras. Por tanto, la terapia afecta al paciente en el que se ha llevado a cabo, no a su descendencia. Sin embargo, la terapia génica germinal afecta a las células reproductoras, a las células precursoras de la línea germinal o a las células embrionarias en las primeras etapas de desarrollo, es decir, a óvulos o espermatozoides, y en este caso, la descendencia portará la versión correcta del gen, aunque esta terapia no está permitida por motivos éticos (Gonçalves and Paiva, 2017).

En cuanto a los métodos de aplicación de la terapia génica hay que distinguir la terapia *ex vivo* de la *in vivo* (Figura 2). En la *ex vivo*, la transferencia de genes se lleva a cabo extrayendo las células del cuerpo que se quiere modificar, se cultivan y se modifican en el laboratorio a través de vectores para luego ser administrados al paciente de nuevo. Por otro lado, en la terapia *in vivo* se produce la transferencia de genes a través de vectores virales o no virales los cuales se inoculan al paciente (Bulcha *et al.*, 2021).

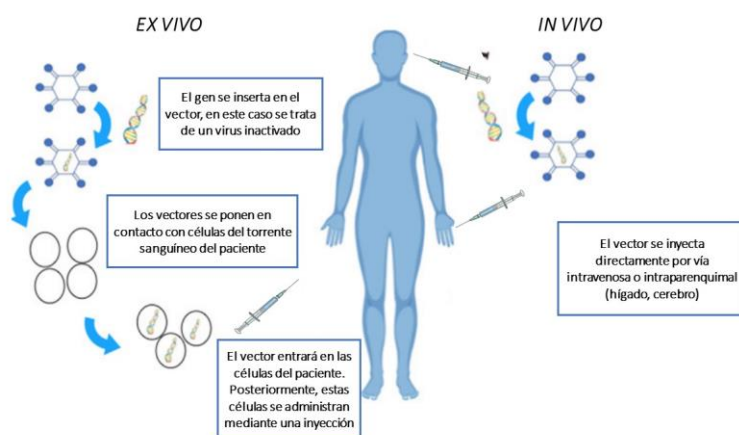


Figura 2. Diferencias entre las terapias *ex vivo* e *in vivo* (modificada de Rashid *et al.*, 2020).

1.2 Estrategias de la terapia génica

Dependiendo de los objetivos que se persigan en la terapia génica, se pueden utilizar cuatro metodologías:

- **Silenciamiento de genes:** se usa cuando la enfermedad es debida a la presencia de un gen dominante. En esta técnica el objetivo consiste en degradar el ARNm mutado para que no se transcriba y no dé lugar a la proteína responsable de la enfermedad. El silenciamiento de genes se consigue mediante ribozimas, oligonucleótidos antisentido y ARN de interferencia pequeño (ARNip) (**Figura 3**) (Ziccardi *et al.*, 2019).

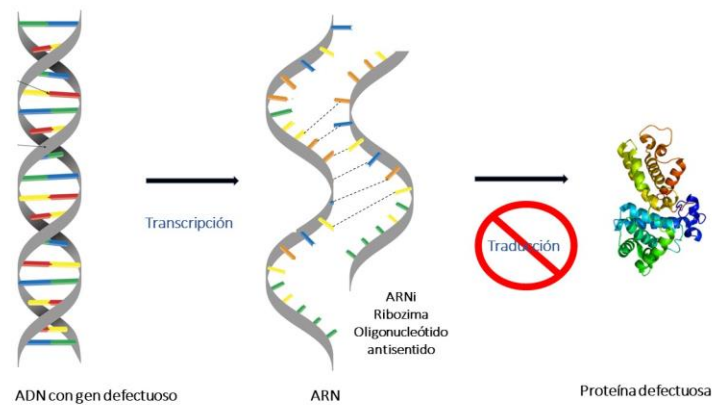


Figura 3. Esquema de la estrategia del silenciamiento de genes (elaboración propia).

- **Reemplazo de genes:** se utiliza cuando la mutación se produce en un gen recesivo. En este caso, el gen mutado responsable de la enfermedad se reemplaza por el gen funcional, haciendo uso de vectores virales y no virales (**Figura 4**) (Rashid *et al.*, 2020).

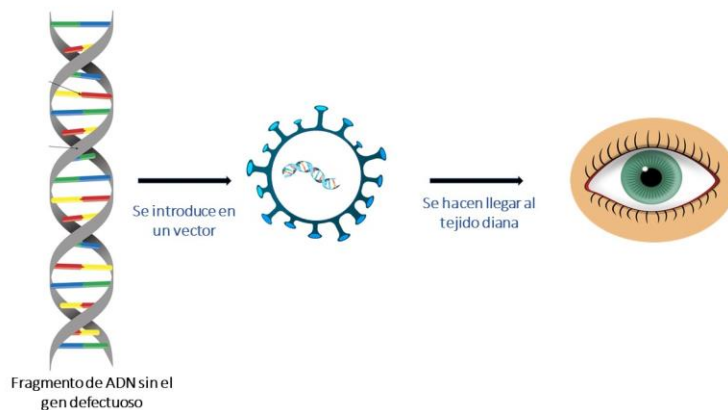


Figura 4. Esquema de la estrategia del reemplazo de genes (elaboración propia).

- **Edición de genes usando el sistema CRISPR/Cas9:** este sistema está formado por ARN que

transfiere una nucleasa (Cas9) a lugares específicos de ADN. La nucleasa es una proteína que provoca roturas de doble cadena en el ADN. Más tarde, dicha rotura se repara mediante unión final no homóloga en la que se unen los dos extremos o reparación dirigida por homología en la que se hace uso de una plantilla de manera que induzca menos errores (Figura 5) (Giono, 2017).

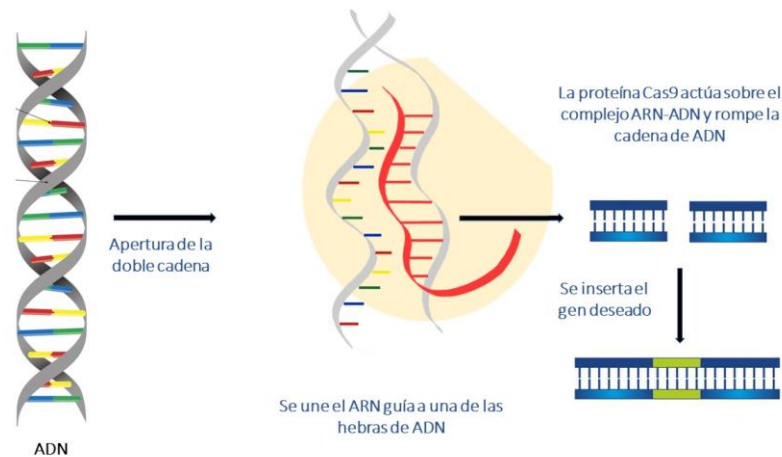


Figura 5. Esquema de la estrategia de la edición de genes usando CRISPR/Cas9 (elaboración propia).

- **Adición de un gen:** en esta estrategia se introduce una copia funcional del gen que sustituya la función del gen defectuoso (Rashid *et al.*, 2020).

1.3 Técnicas de transferencia de genes

Las técnicas utilizadas para la transferencia de genes se pueden clasificar en función del tipo de método que se aplique, sea físico, químico o biológico, como se muestra en la Figura 6 (Keeler *et al.*, 2017).



Figura 6. Métodos de transferencia de genes (elaboración propia).

1.3.1. Métodos físicos

Se caracterizan por emplear una fuerza física para mejorar la penetrabilidad del gen en cuestión, sin embargo, esto conlleva una desventaja importante ya que el daño producido reduce la viabilidad de las células a las que se les ha transferido el gen. El empleo de estos métodos radica en la comodidad y la fiabilidad. Entre ellos destacan la electroporación, biolística, microinyección, láser, temperatura elevada, ultrasonido y aplicaciones hidrodinámicas (Sayed *et al.*, 2022).

1.3.2. Métodos químicos

Se basan en la formación de complejos con el material genético que permite su paso a través de las membranas. Incluyen liposomas y polímeros, entre otros (Munagala *et al.*, 2021).

En concreto, el método de transporte de genes a partir de liposomas o polímeros podría considerarse ideal ya que presentan una composición definida y la fabricación es automatizable (Collins and Thrasher, 2015). Entre sus ventajas destacan la baja citotoxicidad, inmunogenicidad y mutagénesis. No obstante, presenta algunos problemas de absorción que limitan su uso, además de la eficiencia, especificidad, duración de la expresión de genes y seguridad (Zu and Gao, 2021).

1.3.3. Métodos biológicos

Dentro de este grupo encontramos vectores virales y no virales. Entre los virales destacan los lentivirus (LV), adenovirus y adenoasociados (AAV) (Savenkova *et al.*, 2022). Entre los no virales destacan la bacto-fección (por bacterias) (Johnson *et al.*, 2019) o exosomas (Munagala *et al.*, 2021). Actualmente, lo que más se ha usado en ensayos clínicos y que ha dado mejores resultados han sido los vectores virales, puesto que estos están adaptados para el intercambio de material genético (Collins and Thrasher, 2015). Sin embargo, también se pueden encontrar una serie de inconvenientes: el método de obtención no es rentable a gran escala y se ha comprobado que el paciente puede desarrollar respuestas inmunogénicas (Zu and Gao, 2021).

Vectores virales:

Los retrovirus son virus de ARN por lo que requiere la presencia de transcriptasa inversa para pasar de ARN a ADN y así poder integrarse en el genoma del huésped. La ventaja de los retrovirus es la capacidad de insertar en el genoma del huésped y permitir la transcripción de genes. Esta terapia ha sido mejorada con la introducción de un vector

retroviral llamado lentivirus, el cual permite la entrada del vector en células en no división también. Aunque la mutagénesis inducida es menor que para otros retrovirus usados hasta el momento, el nivel de seguridad todavía se cuestiona (Munis, 2020). Como desventaja hay que destacar que debido a su capacidad para integrarse en el genoma humano puede dar lugar a mutagénesis y oncogénesis (Lukashev and Zamyatnin, 2016).

Los adenovirus son virus de ADN cuya ventaja radica en la menor toxicidad. Además, la tercera generación puede portar genes de hasta 30 kb, lo que lo hace un buen vector (Butt *et al.*, 2022).

Por último, los adenoasociados son virus de ADN que se caracterizan por tener menor toxicidad e inducen una menor respuesta inmunitaria que los adenovirus. Esto se debe a la menor capacidad de integrarse en el genoma del huésped (Lukashev and Zamyatnin, 2016). Estos vectores pueden infectar a células que no se dividen, pero los genes que transportan son de escaso tamaño (Shinkuma, 2021).

Vectores no virales:

Respecto a la bacto-fección, aún no se tiene clara la seguridad a largo plazo por la posibilidad de futuras infecciones. También se evalúa la toxicidad por la posibilidad de producirse en el paciente un shock séptico o síndrome de lisis tumoral (Kramer *et al.*, 2018).

En cuanto al último vector no viral del que se va a hablar, los exosomas, como ventaja principal destacar su seguridad, ausencia de inmunogenicidad y de citotoxicidad. No obstante, el método de obtención no es rentable económicamente (Zhao *et al.*, 2020).

En la **Tabla 1** se recogen las principales características de los vectores anteriormente citados.

Tabla 1. Características de vectores biológicos (modificado según Lukashev and Zamyatnin, 2016; Kramer *et al.*, 2018).

VECTOR	TAMAÑO DEL GEN QUE PUEDEN PORTAR	INMUNOGENICIDAD	SEGURIDAD
Retrovirus	Hasta 10 kb	Baja	Baja
Lentivirus	Hasta 10 kb	Baja	Aceptable
Adenovirus	Hasta 30 kb	Alta	Baja
Adenoasociados	Hasta 4 kb	Baja	Alta
Bacto-fección	Depende de la bacteria	No determinado	Muy baja
Exosomas	Depende del exosoma	Nula	Alta

1.4. Terapia génica en el ojo

La terapia génica se puede aplicar en células de la sangre, de la médula ósea o de cualquier tejido. Dado que esta revisión está focalizada en las enfermedades oculares, en este Trabajo de Fin de Grado se ha seleccionado el ojo, y más concretamente, la retina como tejido diana puesto que algunas enfermedades de la retina tienen su origen en defectos genéticos. Las distrofias hereditarias retinianas son un grupo de trastornos en los que la alteración en un gen puede conducir a la degeneración de la retina y, por consiguiente, a la ceguera. Este tipo de enfermedades suelen ser graves, crónicas, progresivas, discapacitantes y producen una reducción parcial o una pérdida total de la visión. Entre las más frecuentes se encuentran la amaurosis congénita de Leber, la retinosis pigmentaria y la enfermedad de Stargardt (Botto *et al.*, 2022). No obstante, no solo se puede aplicar la terapia génica en el polo posterior del ojo. El uso de esta en el polo anterior puede tratar enfermedades como el glaucoma, la neovascularización corneal o la aniridia (Solinís *et al.*, 2015).

1.4.1 El ojo como diana en la terapia génica

La visión es posible ya que la luz entra en el ojo a través de la pupila y llega a un punto en la retina llamada fovea. Esta luz es transformada en impulsos eléctricos (proceso conocido como fototransducción) por una serie de células conectadas entre sí, y dicho impulso llegará a través del nervio óptico a la corteza cerebral (**Figura 7**) (Hejtmancik *et al.*, 2017).

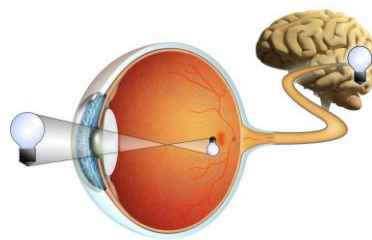


Figura 7. Proceso de la visión (<https://www.clinicabaviera.com/blog/quieres-saber-como-se-produce-la-vision/>).

La retina se considera una extensión del sistema nervioso central tanto por su origen embriológico como por sus propiedades anatómicas y funcionales, así como por el complejo proceso de la visión que lleva a cabo. Por tanto, la retina ha sido considerada una potencial diana para el tratamiento de distrofias retinianas hereditarias. Las características que hacen del ojo una diana para la terapia génica es el fácil acceso mediante inyecciones o cirugía con métodos no invasivos, el pequeño tamaño de la retina que requiere una menor cantidad de agentes terapéuticos, la presencia de la barrera hematorretiniana que proporciona inmunidad

ocular, la ausencia de vasos linfáticos y la posibilidad de tratar solo un ojo y establecer el otro como control en seguridad y eficacia ya que las enfermedades retinianas suelen ser bilaterales y simétricas (Ziccardi *et al.*, 2019).

1.4.2 Metodologías y vectores empleados en la terapia génica en el ojo

La metodología aplicada en la terapia génica en enfermedades oculares hereditarias va a ser diferente en función de si el gen que produce la mutación es dominante o recesivo. En el primer caso, el silenciamiento es el método de elección; en el segundo caso, el reemplazo de genes (Botto *et al.*, 2022). En relación con los vectores usados, se emplean tanto los virales como los no virales (Sainz-Ramos *et al.*, 2021). Entre las características de un vector ideal destacan (Dhurandhar *et al.*, 2021):

- 1) La eficiencia de transducción de las células diana para expresar transgenes el tiempo deseado
- 2) La no integración en el genoma de la célula diana para evitar posteriores mutagénesis
- 3) La especificidad de expresión del transgén solo en la célula diana
- 4) El tropismo específico del vector para la infectividad

La administración de estos vectores se realiza por inyección intravítrea y en el espacio subretiniano. Para llevar a cabo este último hay que inducir un desprendimiento de retina iatrogénico que puede derivar en un desprendimiento de retina con la consiguiente pérdida de visión del paciente. Por tanto, la inyección subretiniana es un método menos seguro, aunque más eficaz. La inyección intravítrea por su parte es menos eficaz tanto por la dilución del vector en la cavidad vítrea como por la necesidad de atravesar la retina para llegar a la diana pero es un método más seguro (DiCarlo *et al.*, 2018).

1.4.3 Acceso y coste de la terapia génica en enfermedades oculares en España

Antes de que el tratamiento llegue a los pacientes potenciales, estos deben llegar al mercado. Se verían sometidos a un proceso de regulación, autorización legal, distribución, disponibilidad y costos y reembolso. La autorización y la disponibilidad del tratamiento está controlado por distintas agencias, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) en Estados Unidos y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) en Europa (Rigter *et al.*, 2021).

Uno de los problemas a los que se enfrentan los beneficiarios de los tratamientos

basados en terapia génica es el coste y el pago/reembolso de la terapia, los cuales pueden ir desde 200.000 € a millones de euros (Carvalho *et al.*, 2021). No obstante, los organismos de evaluación de tecnologías sanitarias (ETS) y las autoridades de reembolso de España determinan qué tratamientos se reembolsan y qué condiciones deben reunir. Hasta el año 2021 los únicos tratamientos para los cuales la Comisión Interministerial de Precios permitía un reembolso en dos pagos eran Kymriah® (tratamiento para linfomas no Hodgkin de células B) y Yescarta® (tratamiento para linfoma folicular) (Jørgensen and Kefalas, 2021). Estas dos terapias se usaron para probar y validar el sistema Valtermed (Sistema de Información para determinar el Valor Terapéutico en la Práctica Clínica Real de los Medicamentos de Alto Impacto Sanitario y Económico en el Sistema Nacional de Salud), el cual fue diseñado para recopilar datos clínicos del mundo e incrementar el conocimiento sobre estas terapias y valorar beneficios (Jørgensen *et al.*, 2020).

Actualmente, España cuenta con centros en los que se están llevando a cabo ensayos clínicos basados en la terapia génica para degeneraciones retinianas hereditarias. Más concretamente, el 9% de los centros españoles participan en ensayos clínicos para estas enfermedades, mientras que el 75% de todos los centros estarían interesados en participar (Lorenz *et al.*, 2021).

En España, la amaurosis congénita de Leber es la única enfermedad retiniana para la cual se ha aplicado la terapia génica como tratamiento. En 2018, la EMA autorizó la terapia génica Luxturna® para el tratamiento de esta distrofia en adultos y niños con mutaciones en el gen RPE65. Para ser candidato al tratamiento debe presentar una mutación bialélica del gen y conservar tejido retiniano viable (EMA, 2018). Esta terapia está financiada por la sanidad pública desde 2021, fecha en la que se realizó la primera intervención a una niña de 12 años en Cataluña. En la actualidad hay cinco hospitales en los cuales se puede hacer uso de esta terapia para el tratamiento de la patología, y, concretamente en Andalucía, el Hospital Universitario Virgen Macarena es el autorizado.

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo Fin de Grado es el análisis de la evidencia científica de la efectividad de la terapia génica en las enfermedades oculares y la evaluación del potencial y las expectativas de futuro para esta novedosa rama terapéutica. Este objetivo general se ha llevado a cabo mediante una serie de objetivos específicos:

- 1) Describir los tipos de terapia génica según el método de administración.
- 2) Comprender los métodos de transferencia de genes en la terapia génica.
- 3) Revisar los estudios en los que se ha aplicado la terapia génica en enfermedades oculares hereditarias y adquiridas.
- 4) Explorar las futuras estrategias innovadoras de la terapia génica en las enfermedades oculares.

3. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este Trabajo Fin de Grado se han realizado consultas a través de: Pubmed, Google Scholar, Elsevier, ScienceDirect. También se han consultado libros y publicaciones del catálogo FAMA de la Universidad de Sevilla, así como páginas web.

La búsqueda inicial se realizó entre junio de 2022 y mayo de 2023. Para seleccionar los artículos se estableció como criterio de inclusión una fecha posterior o igual al año 2012.

Los términos utilizados fueron:

- “gene therapy” (121.977 resultados)
- “gene therapy and viral vectors” (2.856 resultados)
- “gene therapy and bactofection” (4 resultados)
- “gene therapy and eye diseases” (3.133 resultados)
- “retinitis pigmentosa” (2.639 resultados)
- “gene therapy and retinitis pigmentosa” (734 resultados)
- “stargardt disease” (415 resultados)
- “leber congenital amaurosis” (370 resultados)
- “gene therapy and leber disease” (94 resultados)
- “clinical trials of gene therapy in leber disease” (6.380 resultados)
- “AMD” (4.880 resultados)
- “gene therapy and age-related macular degeneration” (1.220 resultados)
- “gene therapy and anterior eye segment” (403 resultados)

Además, se consultaron las referencias de los artículos utilizados siempre que estuvieran dentro del periodo de tiempo seleccionado para la revisión.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ventajas ya mencionadas anteriormente de la terapia génica han dado lugar a su aplicación en muchas enfermedades incluso aunque el origen no sea monogénico. Tanto es así que incluso se está utilizando para tratar enfermedades cuyo origen no es ni siquiera genético, como ocurre en la queratitis herpética o la neovascularización corneal. Dentro de las afecciones que pueden afectar al ojo y comprometer la visión, se dividen en las que afectan al polo posterior y que son las más ampliamente estudiadas, y las que afectan al polo anterior.

4.1 Polo posterior del ojo

Dentro de las enfermedades del polo posterior del ojo, se hará una distinción entre las hereditarias y las adquiridas. Entre las hereditarias para las cuales se aplica terapia génica se encuentran la retinosis pigmentaria, la enfermedad de Stargardt, la amaurosis congénita de Leber, la coroideremia, la acromatopsia y el síndrome de Usher (Battu *et al.*, 2022). Entre las adquiridas se encuentra la degeneración macular asociada a la edad (Dhurandhar *et al.*, 2021).

4.1.1 Distrofias retinianas hereditarias

4.1.1.1 Retinosis pigmentaria o retinitis pigmentosa

La retinosis pigmentaria (RP) es la distrofia retiniana más frecuente (1 de cada 4.000 personas). La enfermedad se caracteriza por la pérdida de bastones, que son los fotorreceptores responsables de la visión nocturna. A medida que la enfermedad progresa, se pierden también los conos (Bruninx and Lepièce, 2020).

El síntoma inicial es una pérdida de la visión nocturna denominada nictalopía, que se presenta en forma de dificultad para adaptarse a la oscuridad. Más adelante, le sigue una pérdida de campo visual de forma concéntrica, lo que se conoce como visión de túnel. Por último, se pierde la visión central (Verbakel *et al.*, 2018).

Las causas más comunes de retinosis pigmentaria es por mutación del gen RHO (*rhodopsin*) y que es de herencia dominante (Verbakel *et al.*, 2018); y por mutación del gen RPGR (*retinitis pigmentosa GTPase regulator*) que es de herencia ligada al sexo (Cehajic-Kapetanovic *et al.*, 2020).

La rodopsina es la proteína presente en los bastones encargada de detectar la luz que llega a la retina. Cuando se produce la mutación del gen RHO, se compromete la síntesis de

proteínas, codificando para una rodopsina no funcional y comprometiendo el proceso de la visión (Athanasίου *et al.*, 2018). Por otra parte, el gen RPGR codifica una proteína presente en la zona ciliar que conecta la porción externa e interna de los fotorreceptores, por lo que si este gen está mutado, la conexión entre ambos segmentos de las células encargadas de la visión se verá comprometida (De Silva *et al.*, 2021).

Esta enfermedad da lugar a la agregación de proteínas, la respuesta inmunitaria, a una disfunción metabólica y a un desequilibrio entre los sistemas oxidativos y antioxidantes, contribuyendo a la muerte de células de la retina. Aunque actualmente no hay ningún tratamiento disponible que cure dicha enfermedad (Ducloyer *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022) existe una terapia con agentes neuroprotectores para enlentecer la evolución de la enfermedad y, por otro lado, también se puede aplicar la terapia génica (Liu *et al.*, 2022).

En la **Tabla 2** se resumen los ensayos clínicos sobre terapia génica cuyo objetivo terapéutico son los genes RHO y RPGR. De todos los ensayos clínicos analizados se concluye que, el uso de la terapia génica en esta enfermedad mejora o revierte la función visual y aumenta la sensibilidad retiniana así como la protección de la retina. Aunque se han observado eventos adversos en la mayoría de los ensayos clínicos, ninguno de ellos fue grave y todos resueltos sin secuelas.

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Tabla 2. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la retinosis pigmentaria (elaboración propia). ND, no determinado; AAV, virus adenoasociado; SR, subretiniana; IVT, intravítrea

Referencia	Fase estudio	Duración	Vector	Administración	Mecanismo de acción	Resultados
(Rossmiller <i>et al.</i> , 2012)	Preclínico	ND	AAV (NT-501)	SR	Expresa CNTF (factor neurotrófico derivado de ciliar)	Protección de fotorreceptores, pero reducción de la sensibilidad a la luz
		9 meses	AAV (AAV-RS301)		Expresa ARNi pequeño y ARN complementario de rodopsina	Protección de la retina
(Bakondi <i>et al.</i> , 2016)		39 días	AAV (Px330)		Elimina selectivamente por CRISPR/Cas9 el gen mutado de la rodopsina (RhoS334)	Mejora de la función visual al evitar la degeneración de la retina
(Martinez-Fernandez De La Camara <i>et al.</i> , 2018)	Fase I/II NCT03116113	3 años	AAV (BIIB112)	SR	Codifica el regulador de GTPasa	Reversión de la pérdida de campo visual (17%)
	Fase I/II NCT03252847	18 meses	AAV (AAV2/5-RPGR)			ND
(Massengill and Lewin, 2021)	Fase I/II NCT02556736	6 meses	AAV (RST-001)	IVT	Contiene el gen de la canalrodopsina (proteína que se activa con la luz)	Eventos adversos leves
	Fase I/II NCT03326336	1 año	AAV recombinante (GS030)			ND

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

	Fase I/II NCT04123626	12 meses	Polímero (QR-1123)		Oligonucleótido anti-sentido que reduce la expresión de la proteína P23H conservando la expresión de la rodopsina	ND
(Martinez-Fernandez de la Camara <i>et al.</i> , 2022)	Fase I/II NCT03316560	4 años	AAV (rAAV2tYF-GRK1-RPGR)	SR	Administración del gen RPGR humano	Eventos adversos de leves a moderados derivados de la cirugía. Mejora de la visión
(Martinez-Fernandez de la Camara <i>et al.</i> , 2022)	Fase I/II NCT04517149	60 semanas	AAV (4D- 125)	IVT	Codifica el gen regulador de la GTPasa	Mejora de la sensibilidad retiniana
(Martinez-Fernandez de la Camara <i>et al.</i> , 2022)	Fase III NCT04671433	52 semanas	AAV (AAV5-RPGR)	SR	Codifica el gen regulador de la GTPasa	ND
	Fase III NCT04850118	5 años	AAV recombinante (rAAV2tYF-GRK1-hRPGRco)			

4.1.1.2 Enfermedad de Stargardt

La enfermedad de Stargardt (STGD) es la forma más común de distrofia en los jóvenes (Abdolrahimzadeh *et al.*, 2022).

La enfermedad cursa con pérdida del campo visual central o pericentral, discromatopsia (problema para distinguir los colores) e incluso fotofobia (Cremers *et al.*, 2020).

Es una afección cuyo desencadenante es la mutación de un gen responsable de la pérdida de visión central (Abdolrahimzadeh *et al.*, 2022). Existen tres formas genotípicas y fenotípicas de la misma en función del gen que esté afectado: se conocen como STGD1 (Stargardt disease 1), STGD3 y STGD4. La forma genotípica STGD1 es la más común y es autosómica recesiva, las otras dos son dominantes (Piotter *et al.*, 2021).

El gen implicado en la enfermedad de Stargardt tipo 1 codifica la proteína ABCA4 (*ATP binding cassette subfamily A member 4*), cuya función es esencial en el ciclo visual. Dicha proteína se encarga de eliminar los retinoides de los discos del segmento externo de los fotorreceptores, por lo que si la proteína no es funcional habrá un acúmulo de estos. El comentado acúmulo genera bis-retinoides como el N-retinilideno-N-retiniletanolamina (A2E). Este compuesto será fagocitado por células que degradan los discos, acumulándose en ellas y formando lipofusina, originando el daño celular responsable de la pérdida de visión (Tanna *et al.*, 2017).

En relación con el tratamiento, no hay nada en el mercado capaz de revertir la degeneración, aunque se están haciendo ensayos clínicos con algunos fármacos que podrían contribuir al enlentecimiento de la progresión de este. Todos ellos van encaminados a la inhibición de la síntesis de A2E (Sears *et al.*, 2017). Actualmente, se están realizando ensayos clínicos para valorar la terapia génica como tratamiento para dicha enfermedad (**Tabla 3**). Aunque no hay muchos ensayos clínicos para el tratamiento de esta distrofia, se puede concluir que tanto la seguridad como la tolerabilidad de la terapia génica podrían ser aceptables. Sin embargo, son necesarios más ensayos para poder establecer conclusiones fiables.

Tabla 3. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la enfermedad de Stargardt de administración subretiniana (elaboración propia). ND, no determinado; LV, lentivirus

Referencia	Fase estudio	Duración	Tipo de vector LV	Mecanismo de acción	Resultados
(Parker <i>et al.</i> , 2022)	Fase I/II NCT01367444	3 años	EIAV-ABCA4	Expresa el gen ABCA4 normal	Eventos adversos de leve a severos resueltos sin secuelas. Tolerabilidad favorable
(Nuzbrokh <i>et al.</i> , 2021)	Fase I/II NCT01736592	15 años			ND

4.1.1.3 Amaurosis congénita de Leber

La amaurosis congénita de Leber (LCA) es una de las afecciones de retina más graves y es la responsable del 20% de la ceguera infantil. La prevalencia va desde 1 por cada 81.000 personas a 1 por cada 30.000 (Huang *et al.*, 2021).

Entre los síntomas que la caracterizan se encuentran la pérdida visual congénita o temprana, nistagmo, el signo oculo-digital de Franceschetti (pincharse, presionar y frotar los ojos) y respuestas pupilares lentas o casi inexistentes (Skorczyk-Werner *et al.*, 2020).

Aunque el primer gen que se observó que tenía relación con la enfermedad fue GUCY2D (*guanylate cyclasa 2D*), se han identificado hasta 19 diferentes. No obstante, los más frecuentes son GUCY2D, CEP290 (*centrosomal protein 290*) y RPE65 (*retinoid isomerohydrolase*) (Kumaran *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2021).

El gen GUCY2D codifica la guanilil ciclasa retinal que regula la recuperación de las células neuronales de la retina encargadas de la visión, los fotorreceptores, después de la transducción (Cideciyan and Jacobson, 2019). Por otra parte, el gen RPE65 codifica una isomerasa retinoide cuya deficiencia produce un déficit de 11-cis-retinal, que es un derivado de la vitamina A que, junto con la opsina correspondiente, forman las proteínas responsables de la fototransducción. El último gen implicado, CEP290, codifica una proteína centrosomal y su defecto produce deficiencia en el transporte ciliar de los fotorreceptores (Kumaran *et al.*, 2017).

El tratamiento actual es sintomático y de apoyo (Daich Varela *et al.*, 2022). El único capaz de tratar la enfermedad desde el origen sería la terapia génica. Actualmente, se están llevando a cabo ensayos clínicos que se resumen en la **Tabla 4**. El mecanismo de acción de los

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

nueve primeros se basa en administración del gen RPE65 deficiente. El del último ensayo clínico resumido está basado en el transporte de Cas9 y dos ARN guía por parte del vector hacia el gen CEP290 para eliminar la parte responsable de la enfermedad.

Tras el análisis de los resultados de los ensayos clínicos encontrados para dicha distrofia se puede concluir que la función visual de la mayoría de los pacientes tratados mejora sin encontrar problemas de seguridad, excepto un ensayo en el que se observaron 3 casos graves de uveítis de los 15 participantes del estudio. Por tanto, parece necesario investigar en profundidad características comunes de estos pacientes con uveítis secundaria al uso de la terapia génica para determinar la posibilidad de que los pacientes con amaurosis congénita de Leber deban cumplir criterios para poder beneficiarse de este tipo de terapia.

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Tabla 4. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la amaurosis congénita de Leber llevados a cabo por administración subretiniana (elaboración propia).
AAV, virus adenoasociado

Referencia	Fase estudio	Duración	Tipo de vector AAV	Resultados
(Ashtari <i>et al.</i> , 2011)	Fase I NCT00516477	5 años	AAV2-hRPE65v2	Recuperación de la función visual por aumento de la sensibilidad a la luz de las células retinianas
(Jacobson <i>et al.</i> , 2015)	Fase I NCT00481546	15 años	rAAV2-CBSB-hRPE65 (recombinante)	Mejora visual desde el primer mes de tratamiento
(Garafalo <i>et al.</i> , 2020)	Fase I NCT00749957	2 años	rAAV2-CB-hRPE65 (recombinante)	Mejora de la función visual
(Bainbridge <i>et al.</i> , 2015)	Fase I/II NCT00643747	12 meses	AAV2/2-hRPE65p-hRPE65 (recombinante)	Aumento de la sensibilidad retiniana a la luz
(Garafalo <i>et al.</i> , 2020)	Fase I/II NCT02781480	6 meses	AAV RPE65	3/15 eventos adversos graves de uveítis
(Chiu <i>et al.</i> , 2021)	Fase I/II NCT01496040	1 año	rAAV2/4.hRPE65	Mejora de la agudeza visual, campo visual y estimulación de la retina
(Cheng and Punzo, 2022)	Fase I/II NCT03872479	1 año	EDIT-101	Ausencia de eventos adversos
(Nuzbrokh <i>et al.</i> , 2021)	Fase III NCT00999609	1 año	AAV2-hRPE65v2	Eventos adversos leves

4.1.1.4 Coroideremia

La coroideremia se trata de una degeneración coriorretiniana que afecta aproximadamente a 1 de cada 50.000 personas. Predominantemente se ven afectados los hombres, más que las mujeres, y la mala visión nocturna se presenta entre las edades de 5 a 25 años de edad (Abbouda *et al.*, 2021).

El síntoma que caracteriza a esta distrofia es la ceguera nocturna que evoluciona a ceguera legal (0,1 de agudeza visual). De hecho, el síntoma principal hace que se diagnostique erróneamente como retinosis pigmentaria por lo que para llevar a cabo el diagnóstico diferencial es imprescindible examinar el fondo de ojo. La diferencia entre ambas retinas está en que la degeneración retiniana en la retinosis pigmentaria es única y difusa, mientras que en la coroideremia son varias y delimitadas (Lam *et al.*, 2021).

Esta distrofia es de herencia ligada al cromosoma X. El gen implicado es el CHM que codifica una proteína importante en el transporte intracelular de proteínas (REP-1, *rab escort protein 1*). Normalmente, la proteína REP tiene dos isoformas. La isoforma REP-2 sirve para compensar la deficiencia de REP-1. No obstante, dicha proteína está ausente en el epitelio pigmentario, los fotorreceptores y la coroides. Esta mutación conlleva a la degeneración tanto de los fotorreceptores como de la coroides (Mitsios *et al.*, 2018).

En cuanto al tratamiento, actualmente no hay opciones terapéuticas. Aunque se están abriendo líneas de investigación de nuevos posibles tratamientos como terapia de genes, células madre o prótesis de retina (Brambati *et al.*, 2019). En la **Tabla 5** se exponen los ensayos clínicos realizados y los resultados concluidos. En este caso, los resultados no son tan prometedores como para el resto de las enfermedades retinianas explicadas, puesto que en 3 de los 7 ensayos clínicos los cambios generados en la visión eran mínimos y en uno de ellos se observaron eventos adversos graves.

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Tabla 5. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la coroideremia mediante administración subretiniana cuyo mecanismo de acción consiste en la codificación de la proteína REP-1 (elaboración propia). ND, no determinado; AAV, virus adenoasociado

Referencia	Fase estudio	Duración	Tipo de vector AAV	Resultados
(Abbouda <i>et al.</i> , 2021)	Fase I/II NCT01461213	2 años	rAAV2.REP1	Recuperación de la visión en 12/15 de los participantes. Algunos eventos adversos graves
	Fase I/II NCT02077361	2 años		Cambio mínimo en la visión
	Fase I/II NCT02341807	5 años	AAV2-hCHM	Cambio mínimo en la visión
(Abbouda <i>et al.</i> , 2021)	Fase II NCT02671539	2 años	rAAV.REP1	Mejora de la visión en 1/6 de los participantes
	Fase II NCT02553135	5 años	AVV2-REP1	Cambio mínimo de la visión
(Xue and MacLaren, 2018)	Fase II NCT02407678	2 años	AAV2.REP1	Seguridad en la inyección
(Mitsios <i>et al.</i> , 2018)	Fase III NCT03496012	1 año	BIIB111	ND

4.1.2 Enfermedades retinianas adquiridas

4.1.2.1 Degeneración macular asociada a la edad

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una enfermedad retiniana considerada como la primera causa de pérdida irreversible de visión en personas mayores de 65 años en países desarrollados. La DMAE presenta tres estadios: etapa temprana, intermedia y tardía. Dentro de la tardía se distinguen, a su vez, dos tipos de DMAE, la neovascular, exudativa o húmeda y la atrófica o seca (Stahl, 2020). La húmeda es la menos frecuente pero produce el 90% de la ceguera derivada de esta degeneración (Hernández-Zimbrón *et al.*, 2018).

La DMAE húmeda se caracteriza por un aumento de la vascularización en la coroides que conlleva una pérdida de visión rápida y severa, hemorragia retiniana e incluso desprendimiento del epitelio pigmentario (Tan *et al.*, 2020).

El tratamiento actual de la DMAE neovascular se basa en inyecciones intravítreas de inhibidores de anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) como ranizumab y aflibercept (Tan *et al.*, 2020), por lo que la terapia génica ha buscado promover la expresión de inhibidores de VEGF y con ello inhibir la formación de nuevos vasos que son los responsables de la pérdida de visión (DiCarlo *et al.*, 2018). De esta forma disminuiría la necesidad de las recurrentes inyecciones. La mayoría de los ensayos clínicos de terapia génica para la DMAE neovascular se resumen en la **Tabla 6**.

En cambio, para la DMAE seca no hay tratamiento específico actual por falta de ensayos en los que se hayan obtenido resultados satisfactorios (Tan *et al.*, 2020). Los ensayos clínicos de terapia génica realizados se recogen en la **Tabla 7**. Como se puede observar, la administración en el primer ensayo clínico es por vía intravítrea, mientras que para los dos últimos es subretiniana. Aunque sí se puede concluir que la terapia génica es segura y bien tolerada en esta enfermedad, no se hace un especial énfasis en que haya habido una recuperación o mejora de la función visual porque en la mayoría de ellos no se especifica.

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Tabla 6. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la degeneración macular húmeda asociada a la edad (elaboración propia). ND, no determinado; SR, subretiniana; IVT, intravítrea; AAV, virus adenoasociado; LV, lentivirus; CD59, complejo de ataque a la membrana

Referencia	Fase estudio	Duración	Tipo de vector	Administración	Mecanismo de acción	Resultados
(Grishanin <i>et al.</i> , 2019)	Preclínico	24 semanas	AAV (ADVM-022)	IVT	Codifica aflibercept (fármaco antiangiogénico)	Seguridad aceptable, tolerabilidad adecuada. Niveles sostenidos de aflibercept
(Heier <i>et al.</i> , 2017)	Fase I NCT01024998	4 años	AAV (AAV2-sFLT01)	IVT	Expresa sFLT01 (proteína antiangiogénica)	Inyección segura y bien tolerada. Necesidad de estudios adicionales
(Campochiaro <i>et al.</i> , 2017)	Fase I NCT01301443	48 semanas	LV (retinostat)	SR	Expresa endostatina y angiostatina (proteínas antiangiogénicas)	ND
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase I NCT01678872	17 años				
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase I NCT03999801	5 años	AAV (RGX-314)		Expresa un anticuerpo monoclonal similar a ranibizumab (antiangiogénico)	
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase I NCT00722384	ND	Polímero (Cand5)	IVT	ARNi que silencia el ARNm que codifica para VEGF	Seguro
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase I NCT00725686	24 meses	Polímero (PF-04523655)		ARNi dirigido al gen RTP801	Inyección tolerada y segura

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

(Khanani <i>et al.</i> , 2022)	Fase I NCT03585556	2 años	AAV (HMR59)	IVT	Expresa una forma soluble de una proteína que previene la formación de CD59	Bien tolerado. Algunos efectos adversos resueltos
(Constable <i>et al.</i> , 2016)	Fase I/II NCT01494805	3 años	AAV (rAAV.sFLT-1)	SR	Expresa sFLT-1 (proteína antiangiogénica)	La inyección fue segura y bien tolerada
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase I/II NCT00363714	24 semanas	Polímero (AGN211745)	IVT	ARNi que silencia el ARNm que codifica para el receptor del VEGF-1	La inyección fue bien tolerada. La agudeza visual y la estructura de la retina presentaron mejoras
(Guimaraes <i>et al.</i> , 2021)	Fase I/II NCT03066258	104 semanas	AAV (RGX-314)	SR	Expresa un anticuerpo monoclonal similar a ranibizumab (antiangiogénico)	Bien tolerada. Sin respuesta inmune, ni inflamación
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase II NCT00259753	12 semanas	Polímero (Bevasiranib)	IVT	ARNi que silencia el ARNm que codifica para VEGF	Pérdida de visión y extensión de la lesión retiniana (no eficaz)
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase II NCT00713518	48 semanas	Polímero (PF-04523655)		ARNi dirigido al gen RTP801	Comparado con la monoterapia con ranibizumab, este no mejoró la DMAE. La combinación presenta efecto sinérgico
(Lin <i>et al.</i> , 2020)	Fase III NCT00499590	104 semanas	Polímero (Bevasiranib)	IVT	ARNi que silencia el ARNm que codifica para VEGF	La combinación con ranibizumab mejoró la agudeza visual de los pacientes

Tabla 7. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para la degeneración macular asociada a la edad seca (elaboración propia). AAV, virus adenoasociado; CD59, complejo de ataque a la membrana; CFI, factor I del complemento

Referencia	Ensayo	Duración	Tipo de vector AAV	Mecanismo de acción	Resultados
(Cabral de Guimaraes et al., 2022)	Fase I NCT03144999	26 semanas	HMR59	Expresión de una forma soluble de una proteína que previene la formación de CD59	Bien tolerado. Eventos adversos resueltos
(Cheng and Punzo, 2022)	Fase I/II NCT03846193	48 semanas	GT-005	Expresión de CFI (inactiva el sistema del complemento encargado del proceso de inflamación y defensa)	Eventos adversos leves como cataratas. Aumento de CFI, disminución de proteínas involucradas en el sistema del complemento
(Waheed, 2021)	Fase II NCT04566445	96 semanas			Eventos adversos leves resueltos

4.2 Polo anterior del ojo

A pesar de que se asocie la terapia génica con patologías del polo posterior del ojo también se puede hacer uso de ella para el tratamiento de las de polo anterior como fibrosis y cicatrización corneal y conjuntival, supervivencia del injerto de córnea, neovascularización corneal, distrofias corneales genéticas, queratitis herpética, glaucoma, ojo seco, mucopolisacaridosis y aniridia. Para todas estas afecciones la terapia génica ha tenido buenos resultados en modelos animales e *in vitro*, pero los resultados no son concluyentes aún en humanos (Amador *et al.*, 2022).

En la **Tabla 8** se resumen los ensayos clínicos para algunas de las enfermedades detalladas anteriormente. Dado que la terapia génica no ha sido tan estudiada para estas enfermedades del polo anterior, el número de ensayos clínicos se ve reducido comparado con las otras distrofias ya comentadas. Aunque la terapia génica constituye una nueva forma de tratamiento en estas enfermedades, sería necesario continuar con la investigación para confirmar la ausencia de efectos adversos graves y la mejora en las enfermedades.

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Tabla 8. Ensayos clínicos basados en la terapia génica para algunas enfermedades del polo anterior del ojo (elaboración propia). ND, no determinado; AAV, virus adenoasociado

Enfermedad y referencia	Fase estudio	Duración	Vector	Administración	Mecanismo de acción	Resultados
NEOVASCULARIZACIÓN CORNEAL (Qazi <i>et al.</i> , 2012)	Preclínico	4 semanas	Poliácido láctico-co-glicólico (PLGA)	Intraestromal	ARN que inhibe la expresión de VEGF-A (factor de crecimiento endotelial vascular)	Regresión de la neovascularización corneal sin aparición de toxicidad
MUCOPOLISACARIDOSIS (Serratrice <i>et al.</i> , 2014)		ND	Adenovirus caninos tipo 2 (CAV-2)	Intraestromal	Revierde la acumulación de glucosaminoglicanos en queratocitos del estroma	Mejora de la patología canina. Efectos adversos no graves
QUERATITIS HERPÉTICA (Watson <i>et al.</i> , 2018)		17 días	AAV (AAV-LATRz-235)	Intraestromal	La ribozima se dirige al ARN vírico responsable de la latencia del virus del herpes simple 1	Bloqueo de la reactivación del virus
OJO SECO (Contreras-Ruiz <i>et al.</i> , 2013)		ND	Nanopartículas basadas en gelatina (PMUC5AC)	Tópica	Codifica una proteína MUC5A modificada	Mejora de la producción de lágrima. Ausencia de inflamación notable
GLAUCOMA (Moreno-Montañés <i>et al.</i> , 2014)	Fase I	7 días	Polímero (SYL040012)	Tópica	ARNip inhibe la síntesis del receptor b2- adrenérgico (ADRB2) por lo que disminuye la presión intraocular	Bien tolerado y sin correlación directa con los efectos adversos
DISTROFIAS CORNEALES (Courtney <i>et al.</i> , 2014)	<i>Ex vivo</i>	24 h	Polímero (TGFBI-ARG124Cys-14)	Intracelular	ARNip para impedir la traducción de la proteína mutante causante de la distrofia corneal en celosía tipo I	Eliminación del 44% de la proteína mutante

5. CONCLUSIONES

1) Dado que el 80% de la información sensorial llega a través de los ojos, que las enfermedades que afectan a nivel ocular pueden comprometer la visión e incluso ocasionar ceguera y la inexistencia de un tratamiento farmacológico capaz de revertir dichas enfermedades, es de vital importancia explorar las estrategias innovadoras de la terapia génica en las enfermedades oculares.

2) Aunque la terapia génica en las enfermedades oculares comenzó para el tratamiento de enfermedades monogénicas, actualmente se está ampliando para abordar patologías adquiridas.

3) Los resultados obtenidos en los ensayos preclínicos y clínicos realizados hasta la fecha ponen de manifiesto que la terapia génica en las enfermedades oculares es segura y bien tolerada pese a la existencia de eventos adversos los cuales fueron, en la mayoría de los casos, resueltos sin secuelas. Sin embargo, aún se requieren estudios a largo plazo como los que ya se están realizando.

4) El coste de la terapia supone un esfuerzo que muchos no se pueden permitir. En España, el único tratamiento basado en terapia génica para enfermedades oculares financiado por la sanidad pública es para la amaurosis congénita de Leber solo en pacientes que cumplan unas condiciones determinadas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abbouda A, Avogaro F, Moosajee M, Vingolo EM. Update on Gene Therapy Clinical Trials for Choroideremia and Potential Experimental Therapies. *Medicina (Mex)*. 2021; 57: 64. <https://doi.org/10.3390/medicina57010064>

Abdolrahimzadeh S, Formisano M, Di Pippo M, Lodesani M, Lotery AJ. The Role of the Choroid in Stargardt Disease. *Int J Mol Sci*. 2022; 23: 7607. <https://doi.org/10.3390/ijms23147607>

Amador C, Shah R, Ghiam S, Kramerov AA, Ljubimov AV. Gene Therapy in the Anterior Eye Segment. *Curr Gene Ther*. 2022; 22: 104–31. <https://doi.org/10.2174/1566523221666210423084233>

Ashtari M, Cyckowski LL, Monroe JF, Marshall KA, Chung DC, Auricchio A *et al*. The human visual cortex responds to gene therapy-mediated recovery of retinal function. *J Clin Invest*. 2011;121:2160–8. <https://doi.org/10.1172/JCI57377>

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Athanasiou D, Aguila M, Bellingham J, Li W, McCulley C, Reeves PJ *et al.* The molecular and cellular basis of rhodopsin retinitis pigmentosa reveals potential strategies for therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 62: 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.10.002>

Bainbridge JWB, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C *et al.* Long-Term Effect of Gene Therapy on Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med.* 2015; 372: 1887–97. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414221>

Bakondi B, Lv W, Lu B, Jones MK, Tsai Y, Kim KJ *et al.* In Vivo CRISPR/Cas9 Gene Editing Corrects Retinal Dystrophy in the S334ter-3 Rat Model of Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Mol Ther.* 2016; 24: 556–63. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.220>

Battu R, Ratra D, Gopal L. Newer therapeutic options for inherited retinal diseases: Gene and cell replacement therapy. *Indian J Ophthalmol.* 2022; 70: 2316. https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_82_22

Botto C, Ruclli M, Tekinsoy MD, Pulman J, Sahel JA, Dalkara D. Early and late-stage gene therapy interventions for inherited retinal degenerations. *Prog Retin Eye Res.* 2022; 86: 100975. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2021.100975>

Brambati M, Borrelli E, Sacconi R, Bandello F, Querques G. Choroideremia: Update On Clinical Features And Emerging Treatments. *Clin Ophthalmol.* 2019; Volume 13: 2225–31. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S195564>

Bruninx R, Lepière G. Limage du mois. La rétinite pigmentaire. *Rev Med Liege.* 2020; 75(2): 73-74. <https://rmlg.uliege.be/article/3232?lang=en>

Bulcha JT, Wang Y, Ma H, Tai PWL, Gao G. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2021; 6:53. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00487-6>

Butt MH, Zaman M, Ahmad A, Khan R, Mallhi TH, Hasan MM *et al.* Appraisal for the Potential of Viral and Nonviral Vectors in Gene Therapy: A Review. *Genes.* 2022; 13:1370. <https://doi.org/10.3390/genes13081370>

Cabral de Guimaraes TA, Daich Varela M, Georgiou M, Michaelides M. Treatments for dry age-related macular degeneration: therapeutic avenues, clinical trials and future directions. *Br J Ophthalmol.* 2022; 106: 297–304. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2020-318452>

Campochiaro PA, Lauer AK, Sohn EH, Mir TA, Naylor S, Anderton MC *et al.* Lentiviral Vector Gene Transfer of Endostatin/Angiostatin for Macular Degeneration (GEM) Study. *Hum Gene Ther.* 2017; 28: 99–111. <https://doi.org/10.1089/hum.2016.117>

Carvalho M, Sepodes B, Martins AP. Patient access to gene therapy medicinal products: a comprehensive review. *BMJ Innov.* 2021; 7: 123–34. <https://doi.org/10.1136/bmjinnov-2020-000425>

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la Camara C, Nanda A, Davies A, Wood LJ *et al.* Initial results from a first-in-human gene therapy trial on X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR. *Nat Med.* 2020; 26: 354–9. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0763-1>

Cheng S-Y, Punzo C. Update on Viral Gene Therapy Clinical Trials for Retinal Diseases. *Hum Gene Ther.* 2022; 33: 865–78. <https://doi.org/10.1089/hum.2022.159>

Chiu W, Lin T-Y, Chang Y-C, Lai H I-A M, Lin S-C, Ma C, Yarmishyn AA *et al.* An Update on Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophy: Experience in Leber Congenital Amaurosis Clinical Trials. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 4534. <https://doi.org/10.3390/ijms22094534>

Cideciyan AV, Jacobson SG. Leber Congenital Amaurosis (LCA): Potential for Improvement of Vision. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2019; 60: 1680. <https://doi.org/10.1167/iovs.19-26672>

Collins M, Thrasher A. Gene therapy: progress and predictions. *Proc R Soc B Biol Sci.* 2015; 282: 20143003. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3003>

Constable IJ, Pierce CM, Lai C-M, Magno AL, Degli-Esposti MA, French MA *et al.* Phase 2a Randomized Clinical Trial: Safety and Post Hoc Analysis of Subretinal rAAV.sFLT-1 for Wet Age-related Macular Degeneration. *EbioMedicine.* 2016; 14: 168–75. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.11.016>

Contreras-Ruiz L, Zorzi G, Hileeto D, López-García A, Calonge M, Seijo B *et al.* Una nanomedicina para tratar la inflamación de la superficie ocular: rendimiento en un modelo murino experimental de ojo seco. *Gene Ther.* 2013; 20, 467–477 (2013). <https://doi.org/10.1038/gt.2012.56>

Courtney DG, Atkinson SD, Moore JE, Maurizi E, Serafini C, Pellegrini G *et al.* Development of Allele-Specific Gene-Silencing siRNAs for TGFBI Arg124Cys in Lattice Corneal Dystrophy Type I. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2014; 55: 977. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13279>

Cremers FPM, Lee W, Collin RWJ, Allikmets R. Clinical spectrum, genetic complexity and therapeutic approaches for retinal disease caused by ABCA4 mutations. *Prog Retin Eye Res.* 2020; 79: 100861. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100861>

Daich Varela M, Cabral de Guimaraes TA, Georgiou M, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: current management and clinical trials. *Br J Ophthalmol.* 2022; 106: 445–51. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2020-318483>

De Silva SR, Arno G, Robson AG, Fakin A, Pontikos N, Mohamed MD *et al.* The X-linked retinopathies: Physiological insights, pathogenic mechanisms, phenotypic features and novel therapies. *Prog Retin Eye Res.* 2021; 82: 100898. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100898>

Dhurandhar D, Sahoo NK, Mariappan I, Narayanan R. Gene therapy in retinal diseases: A review. *Indian J Ophthalmol.* 2021; 69: 2257-65. https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_3117_20

DiCarlo JE, Mahajan VB, Tsang SH. Gene therapy and genome surgery in the retina. *J Clin Invest*. 2018; 128(6): 2177–88. <https://doi.org/10.1172/JCI120429>

Ducloyer JB, Le Meur G, Cronin T, Adjali O, Weber M. La thérapie génique des rétinites pigmentaires héréditaires. *Médecine/sciences*. 2020; 36:607–15. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020095>.

Agencia Europea de Medicamentos. (21 de septiembre de 2018). Se recomienda la aprobación de una nueva terapia génica para un trastorno hereditario raro que causa pérdida de la visión. <https://www.ema.europa.eu/en/news/new-gene-therapy-rare-inherited-disorder-causing-vision-loss-recommended-approval>

Garafalo AV, Cideciyan AV, Héon E, Sheplock R, Pearson A, WeiYang Yu C *et al*. Progress in treating inherited retinal diseases: Early subretinal gene therapy clinical trials and candidates for future initiatives. *Prog Retin Eye Res*. 2020; 77: 100827. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2019.100827>

Giono LE. CRISPR/CAS9 y la terapia génica. *Medicina*. 2017; 77(5): 405-409. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802017000500009

Gonçalves GAR, Paiva R de MA. Gene therapy: advances, challenges and perspectives. *Einstein São Paulo*. 2017; 15(3):369–75. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082017rb4024>

Grishanin R, Vuilleminot B, Sharma P, Keravala A, Greengard J, Gelfman C *et al*. Preclinical Evaluation of ADVN-022, a Novel Gene Therapy Approach to Treating Wet Age-Related Macular Degeneration. *Mol Ther*. 2019; 27: 118–29. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.11.003>

Guimaraes TAC de, Georgiou M, Bainbridge JWB, Michaelides M. Gene therapy for neovascular age-related macular degeneration: rationale, clinical trials and future directions. *Br J Ophthalmol*. 2021; 105: 151–7. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2020-316195>

Heier JS, Kherani S, Desai S, Dugel P, Kaushal S, Cheng SH *et al*. Intravitreal injection of AAV2-sFLT01 in patients with advanced neovascular age-related macular degeneration: a phase 1, open-label trial. *The Lancet*. 2017; 390: 50–61. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30979-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30979-0)

Hejtmancik JF, Cabrera P, Chen Y, M'Hamdi O, Nickerson JM. *Vision*. United States: Elsevier; 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802381-5.00031-2>

Hernández-Zimbrón LF, Zamora-Alvarado R, Ochoa-De la Paz L, Velez-Montoya R, Zenteno E, Gullias-Cañizo R *et al*. Age-Related Macular Degeneration: New Paradigms for Treatment and Management of AMD. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018: 1–14. <https://doi.org/10.1155/2018/8374647>

Huang C-H, Yang C-M, Yang C-H, Hou Y-C, Chen T-C. Leber's Congenital Amaurosis: Current Concepts of Genotype-Phenotype Correlations. *Genes*. 2021; 12: 1261. <https://doi.org/10.3390/genes12081261>

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, Sumaroka A, Schwartz SB, Heon E *et al.* Improvement and Decline in Vision with Gene Therapy in Childhood Blindness. *N Engl J Med.* 2015; 372: 1920–6. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412965>

Johnson SA, Ormsby MJ, McIntosh A, Tait SWG, Blyth K, Wall DM. Increasing the bactofection capacity of a mammalian expression vector by removal of the f1 ori. *Cancer Gene Ther.* 2019; 26: 183–94. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0039-9>

Jørgensen J, Hanna E, Kefalas P. Outcomes-based reimbursement for gene therapies in practice: the experience of recently launched CAR-T cell therapies in major European countries. *J Mark Access Health Policy.* 2020; 8: 1715536. <https://doi.org/10.1080/20016689.2020.1715536>

Jørgensen J, Kefalas P. The use of innovative payment mechanisms for gene therapies in Europe and the USA. *Regen Med.* 2021; 16: 405–22. <https://doi.org/10.2217/rme-2020-0169>

Keeler AM, ElMallah MK, Flotte TR. Gene Therapy 2017: Progress and Future Directions: Gene Therapy 2017: Progress and Future Directions. *Clin Transl Sci.* 2017; 10: 242–8. <https://doi.org/10.1111/cts.12466>

Khanani AM, Thomas MJ, Aziz AA, Weng CY, Danzig CJ, Yiu G *et al.* Review of gene therapies for age-related macular degeneration. *Eye.* 2022; 36: 303–11. <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01842-1>

Kramer MG, Masner M, Ferreira FA, Hoffman RM. Bacterial Therapy of Cancer: Promises, Limitations, and Insights for Future Directions. *Front Microbiol.* 2018; 9: 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00016>

Kumaran N, Moore AT, Weleber RG, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101: 1147–54. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2016-309975>

Lam BL, Davis JL, Gregori NZ. Choroideremia Gene Therapy. *Int Ophthalmol Clin.* 2021; 61: 185–93. <https://doi.org/10.1097/IIO.0000000000000385>

Lin F-L, Wang P-Y, Chuang Y-F, Wang J-H, Wong VHY, Bui BV *et al.* Gene Therapy Intervention in Neovascular Eye Disease: A Recent Update. *Mol Ther.* 2020; 28: 2120–38. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.06.029>

Liu W, Liu S, Li P, Yao K. Retinitis Pigmentosa: Progress in Molecular Pathology and Biotherapeutic Strategies. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 4883. <https://doi.org/10.3390/ijms23094883>

Lorenz B, Tavares J, Van Den Born LI, Marques JP, Scholl HPN. Current Management of Inherited Retinal Degeneration Patients in Europe: Results of a Multinational Survey by the European Vision Institute Clinical Research Network. *Ophthalmic Res.* 2021; 64: 622–38. <https://doi.org/10.1159/000514540>

TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO EN LAS ENFERMEDADES OCULARES

Lukashev AN, Zamyatnin AA. Viral vectors for gene therapy: Current state and clinical perspectives. *Biochem Mosc.* 2016; 81(7): 700–8. <https://doi.org/10.1134/S0006297916070063>

Martinez-Fernandez De La Camara C, Nanda A, Salvetti AP, Fischer MD, MacLaren RE. Gene therapy for the treatment of X-linked retinitis pigmentosa. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2018; 6: 167–77. <https://doi.org/10.1080/21678707.2018.1444476>

Massengill MT, Lewin AS. Gene Therapy for Rhodopsin-associated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Int Ophthalmol Clin.* 2021; 61: 79–96. <https://doi.org/10.1097/IIO.0000000000000383>

Mitsios A, Dubis AM, Moosajee M. Choroideremia: from genetic and clinical phenotyping to gene therapy and future treatments. *Ther Adv Ophthalmol.* 2018; 10: 251584141881749. <https://doi.org/10.1177/2515841418817490>

Moreno-Montañés J, Sádaba B, Ruz V, Gómez-Guiu A, Zarranz J, González MV *et al.* Phase I Clinical Trial of SYL040012, a Small Interfering RNA Targeting β -Adrenergic Receptor 2, for Lowering Intraocular Pressure. *Mol Ther.* 2014; 22: 226–32. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.217>

Munagala R, Aqil F, Jeyabalan J, Kandimalla R, Wallen M, Tyagi N *et al.* Exosome-mediated delivery of RNA and DNA for gene therapy. *Cancer Lett.* 2021; 505: 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.02.011>

Munis AM. Gene Therapy Applications of Non-Human Lentiviral Vectors. *Viruses.* 2020; 12: 1106. <https://doi.org/10.3390/v12101106>

Newton F, Megaw R. Mechanisms of Photoreceptor Death in Retinitis Pigmentosa. *Genes.* 2020; 11: 1120. <https://doi.org/10.3390/genes11101120>

Nuzbrokh Y, Ragi SD, Tsang SH. Gene therapy for inherited retinal diseases. *Ann Transl Med.* 2021; 9: 1278–1278. <https://doi.org/10.21037/atm-20-4726>

Parker MA, Erker LR, Audo I, Choi D, Mohand-Said S, Sestakauskas K *et al.* Three-Year Safety Results of SAR422459 (EIAV-ABCA4) Gene Therapy in Patients With ABCA4-Associated Stargardt Disease: An Open-Label Dose-Escalation Phase I/IIa Clinical Trial, Cohorts 1-5. *Am J Ophthalmol.* 2022; 240: 285–301. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2022.02.013>

Piotter E, McClements ME, MacLaren RE. Therapy Approaches for Stargardt Disease. *Biomolecules.* 2021; 11: 1179. <https://doi.org/10.3390/biom11081179>

Qazi Y, Stagg B, Singh N, Singh S, Zhang X, Luo L *et al.* Nanoparticle-Mediated Delivery of shRNA.VEGF-A Plasmids Regresses Corneal Neovascularization. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2012; 53: 2837. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-9139>

Rashid RA, Ankathil R. Gene therapy: An updated overview on the promising success stories. *Malays. J. Pathol.* 2020; 42(2): 171-185. <https://www.mjpath.org.my/2020/v42n2/gene-therapy.pdf>

Rigter T, Klein D, Weinreich SS, Cornel MC. Moving somatic gene editing to the clinic: routes to market access and reimbursement in Europe. *Eur J Hum Genet.* 2021; 29: 1477–84. <https://doi.org/10.1038/s41431-021-00877-y>

Rossmiller B, Mao H, Lewin AS. Review: Gene therapy in animal models of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Vis.* 2012.

Sainz-Ramos M, Gallego I, Villate-Beitia I, Zarate J, Maldonado I, Puras G *et al.* How Far Are Non-Viral Vectors to Come of Age and Reach Clinical Translation in Gene Therapy? *Molecular Sci.* 2021; 22: 7545. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8304344/>

Savenkova DA, Makarova ALA, Shalik IK, Yudkin DV. miRNA Pathway Alteration in Response to Non-Coding RNA Delivery in Viral Vector-Based Gene Therapy. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 14954. <https://doi.org/10.3390/ijms232314954>

Sayed N, Allawadhi P, Khurana A, Singh V, Navik U, Pasumarthi SK *et al.* Gene therapy: Comprehensive overview and therapeutic applications. *Life Sci.* 2022; 294:120375. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120375>

Sears AE, Bernstein PS, Cideciyan AV, Hoyng C, Issa PC, Palczewski K *et al.* Towards Treatment of Stargardt Disease: Workshop Organized and Sponsored by the Foundation Fighting Blindness. *Transl Vis Sci Technol.* 2017; 6: 6. <https://doi.org/10.1167/tvst.6.5.6>

Serratrice N, Cubizolle A, Ibanes S, Mestre-Francés N, Bayo-Puxan N, Creyssels S *et al.* Corrective GUSB transfer to the canine mucopolysaccharidosis VII cornea using a helper-dependent canine adenovirus vector. *J Controlled Release.* 2014; 181: 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.02.022>

Shinkuma S. Advances in gene therapy and their application to skin diseases: A review. *J Dermatol Sci.* 2021; 103: 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2021.05.004>

Shirley JL, de Jong YP, Terhorst C, Herzog RW. Immune Responses to Viral Gene Therapy Vectors. *Mol Ther* 2020; 28(3):709–22. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.01.001>

Skorczyk-Werner A, Niedziela Z, Stopa M, Krawczyński MR. Novel gene variants in Polish patients with Leber congenital amaurosis (LCA). *Orphanet J Rare Dis.* 2020; 15: 345. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01634-y>

Stahl A. The Diagnosis and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. *Dtsch Arztebl Int.* 2020. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0513>

Tan W, Zou J, Yoshida S, Jiang B, Zhou Y. The Role of Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. *Int J Biol Sci.* 2020; 16: 2989–3001. <https://doi.org/10.7150/ijbs.49890>

Tanna P, Strauss RW, Fujinami K, Michaelides M. Stargardt disease: clinical features, molecular genetics, animal models and therapeutic options. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101: 25–30. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2016-308823>

Verbakel SK, van Huet RAC, Boon CJF, den Hollander AI, Collin RWJ, Klaver CCW *et al.* Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 66: 157–86. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.03.005>

Watson ZL, Washington SD, Phelan DM, Lewin AS, Tull SS, Schultz GS *et al.* *In Vivo* Knockdown of the Herpes Simplex Virus 1 Latency-Associated Transcript Reduces Reactivation from Latency. *J Virol.* 2018; 92: e00812-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00812-18>

Xue K, MacLaren RE. Ocular gene therapy for choroideremia: clinical trials and future perspectives. *Expert Rev Ophthalmol.* 2018; 13: 129–38. <https://doi.org/10.1080/17469899.2018.1475232>

Zhao X, Wu D, Ma X, Wang J, Hou W, Zhang W. Exosomes as drug carriers for cancer therapy and challenges regarding exosome uptake. *Biomed Pharmacother.* 2020; 128: 110237. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110237>

Ziccardi L, Cordeddu V, Gaddini L, Matteucci A, Parravano M, Malchiodi-Albedi F *et al.* Gene Therapy in Retinal Dystrophies. *Int J Mol. Sci.* 2019; 20:5722. <https://doi.org/10.3390/ijms20225722>

Zu H, Gao D. Non-viral Vectors in Gene Therapy: Recent Development, Challenges, and Prospects. *AAPS J.* 2021; 23: 78. <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00608-7>