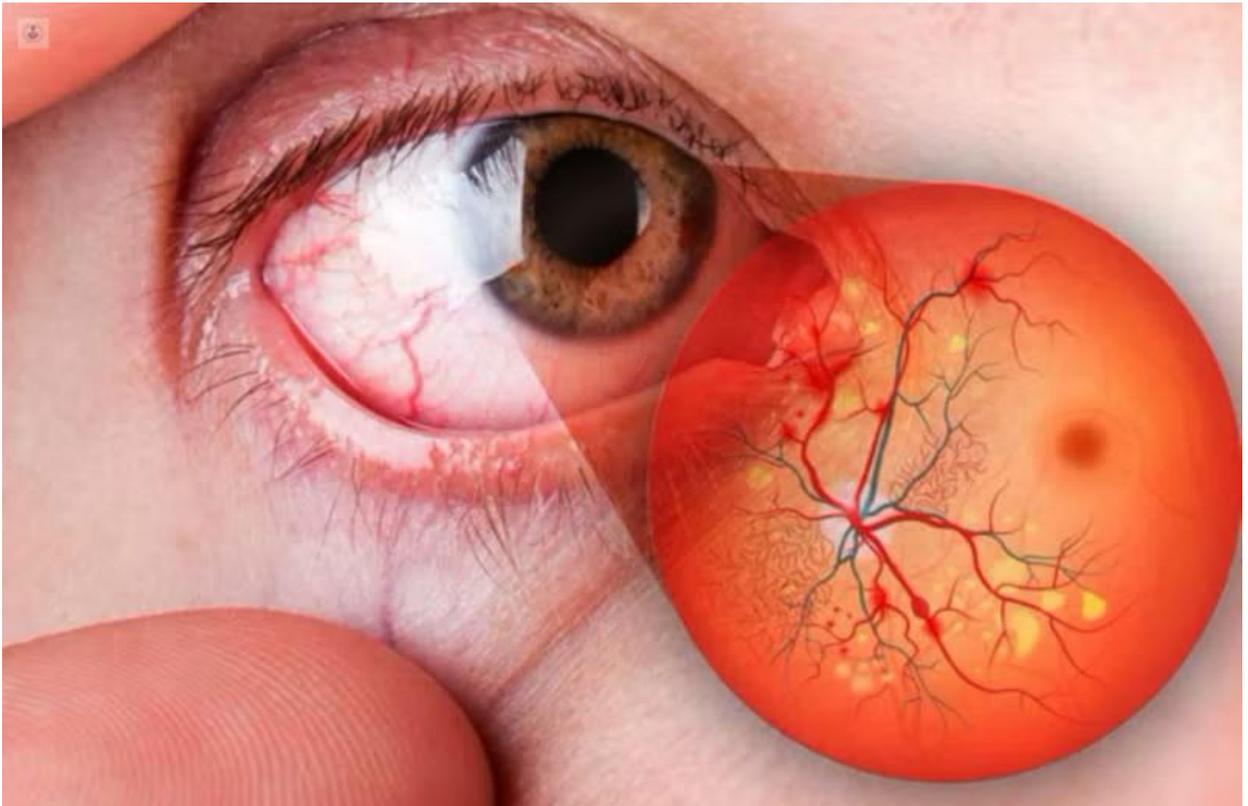




UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA



LA TERAPIA CELULAR APLICADA AL TRATAMIENTO
DE LA RETINOPATÍA

MARÍA GARCÍA FUENTES

DOBLE GRADO EN FARMACIA Y EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

DOBLE GRADO EN FARMACIA Y EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

LA TERAPIA CELULAR APLICADA AL TRATAMIENTO
DE LA RETINOPATÍA

Alumna: María García Fuentes

Tutor: José Antonio Rodríguez Gómez

Departamento: Bioquímica y Biología Molecular

Tipología: Revisión bibliográfica

Curso: 2022-2023

Sevilla. Fecha: 06-06-2023

RESUMEN

Los trastornos degenerativos de la retina son una serie de múltiples enfermedades de la retina que pueden ser adquiridas, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) y la retinopatía diabética (RD), o hereditarias, como la retinitis pigmentosa (RP). Todo lo cual afecta las células de la retina y puede conducir a la pérdida de la visión.

Las estrategias actuales para el tratamiento de los trastornos de la retina implican terapias farmacológicas, quirúrgicas y de trasplante celular. Las terapias celulares tienen la finalidad de prevenir, detener o revertir enfermedades de la retina en pacientes con condiciones de ceguera actualmente incurables.

Los tratamientos con células madre desarrollados como herramientas terapéuticas frente a la degeneración de la retina se dividen en dos categorías amplias: células madre de fuentes exógenas a la retina, incluidas células madre mesenquimales (MSC) y células madre embrionarias/pluripotentes inducidas (ESC/iPSC); y células madre retinales endógenas como las células madre del epitelio pigmentario de la retina (EPR).

En este trabajo se realiza una revisión actualizada de la bibliografía de las principales terapias celulares utilizadas en el tratamiento de las diferentes enfermedades degenerativas retinianas, así como los diferentes estudios preclínicos y clínicos que se han llevado a cabo hasta la actualidad.

Palabras claves: Enfermedad degenerativa retiniana, retinopatía, terapia celular, células madre, trasplante celular.

ABREVIATURAS

EPR, epitelio pigmentario de la retina	MCS, del inglés mesenchymal stem cells
DMAE, degeneración macular asociada a la edad	ESC, del inglés embryonic stem cells
RD, retinopatía diabética	iPSC, del inglés induced pluripotent stem cells
RP, retinitis pigmentosa	CMA, células madre adultas
SD, del inglés Stargardt disease	CMH, células madre hematopoyéticas
RGC, del inglés retinal ganglion cells	MEF, del inglés mouse embryonic fibroblasts
RPC, del inglés retinal progenitor cells	hiPSC, del inglés human induced pluripotent stem cells
BCVA, del inglés best corrected visual acuity	hESC, del inglés human embryonic stem cells
	fPRC, del inglés fetal-derived retinal progenitor cells

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN.....	4
1.1. ANATOMÍA OCULAR.....	4
1.2. ENFERMEDADES RETINIANAS	6
1.2.1. DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD	6
1.2.2. RETINOPATIA DIABÉTICA	9
1.2.3. RETINITIS PIGMENTOSA	10
1.2.4. ENFERMEDAD DE STARGARDT	11
1.2.5. GLAUCOMA.....	11
1.3. TERAPIA CELULAR.....	12
1.3.1. CÉLULAS MADRE	13
1.3.1.1. CÉLULAS MADRE SEGÚN SU CAPACIDAD DE DIFERENCIACIÓN	13
1.3.1.2. CÉLULAS MADRE SEGÚN SU ORIGEN	14
2. OBJETIVOS.....	16
3. METODOLOGÍA	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1. DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS RETINIANAS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE	17
4.2. ENSAYOS CLÍNICOS LLEVADOS A CABO CON CÉLULAS MADRE EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES RETINIANAS	18
4.2.1. REEMPLAZO CELULAR DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA....	18
4.2.2. TRASPLANTE DE FOTORRECEPTORES	23
4.2.3. TRASPLANTE DE CÉLULAS GANGLIONARES	25
4.2.4. TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS DE RETINA HUMANA	25
4.2.5. TRASPLANTE DE CÉLULAS DE LA MÉDULA ÓSEA	28
4.3. TENDENCIAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO BASADO EN CÉLULAS MADRE	32
4.3.1. TRASPLANTE DE FOTORRECEPTORES VS TRASPLANTE DE EPR.....	32
4.3.2. TRASPLANTE DE SUSPENSIONES CELULARES FRENTE A TRASPLANTE DE ORGANOIDES.....	32
4.3.3. TERAPIA GÉNICA COMBINADA CON CÉLULAS MADRE.....	32
5. CONCLUSIÓN.....	33
6. BIBLIOGRAFÍA.....	34

1.INTRODUCCIÓN

1.1. ANATOMÍA OCULAR

El ojo es el órgano principal del sistema visual en el cuerpo humano y es la base de nuestro sentido de la vista. El globo ocular está formado por tres capas principales: una capa exterior fibrosa, una capa vascular/muscular y una capa neural.

La capa fibrosa más externa comprende la esclerótica (o parte blanca del ojo) y la córnea transparente. Esta capa está formada por colágeno y elastina.

Dentro de la capa fibrosa se encuentra la capa vascular/muscular (úvea). Posteriormente se encuentra la coroides ricamente vascularizada, siendo su función suministrar oxígeno y nutrientes a las capas externas de la retina y las estructuras de la cámara anterior. Está débilmente adherida a la esclerótica. Anteriormente, la coroides se continúa con el cuerpo ciliar, que, a su vez, se continúa con el iris. El cuerpo ciliar está formado por el músculo ciliar, que controla la forma del cristalino (la acomodación) y los procesos ciliares, que producen el humor acuoso. El iris es la parte coloreada, muscular y en forma de anillo del ojo. En los bordes del anillo hay fibras musculares longitudinales, que hacen que la pupila se dilate cuando se contraen (Fig. 1).

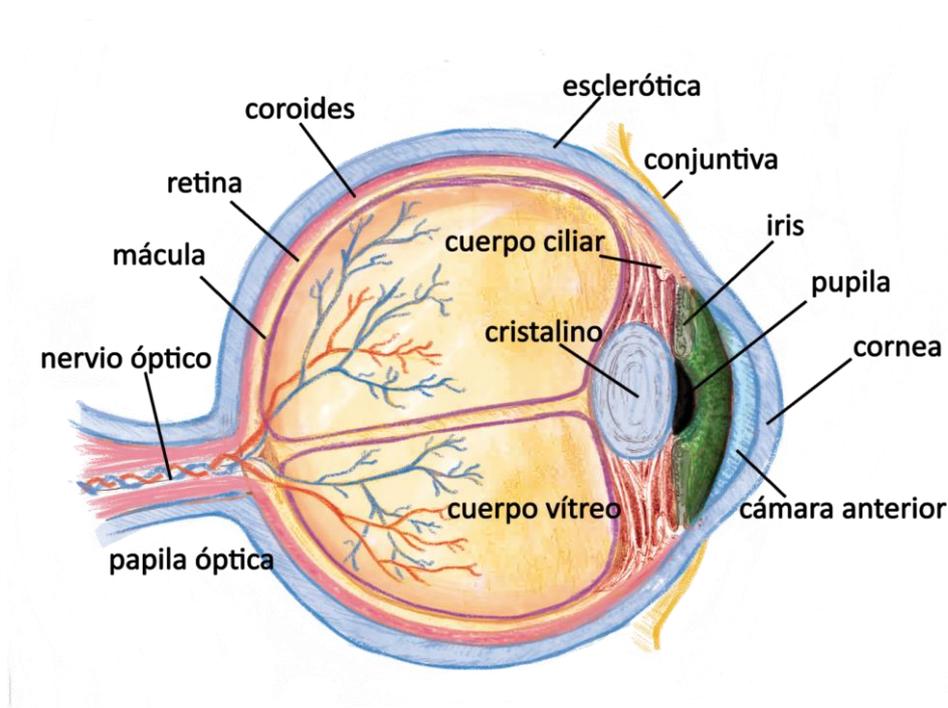


Figura 1. Anatomía del ojo humano.(Top Doctors, n.d.)

La capa más interna del globo ocular es la capa neural o retina. La retina se compone de nueve capas sensoriales neurales que contribuyen a la vía visual y una décima capa de epitelio pigmentario de la retina (Gupta et al., 2015). Las dos últimas capas son las más importantes, son las capas de fotorreceptores y la capa del epitelio pigmentario de la retina, contribuyen en gran medida a la función visual (Alsaeedi et al., 2020).

Los fotorreceptores sensibles a la luz, los conos y bastones, detectan los impulsos de luz del entorno y los transmiten a la corteza visual. No hay fotorreceptores donde el nervio óptico ingresa al ojo, esto da como resultado un pequeño punto ciego en la retina. En el polo posterior del ojo, medial al disco óptico, está la mácula lútea (mancha amarilla). La posición de la fovea es una pequeña zona donde se concentran intensamente los fotorreceptores de color (conos). La fovea es el punto de mayor agudeza visual, donde se concentran los rayos de luz al fijarse en un objeto (Presland y Price, 2014).

El EPR es una sola capa de células que forma la barrera hematoocular externa ubicada entre los fotorreceptores de la retina y la coriocalilar. Las células del EPR forman una monocapa de células pigmentadas de forma hexagonal que recubren una membrana basal que es, a su vez, parte de una matriz extracelular de cinco capas llamada Membrana de Bruch. La membrana de Bruch está compuesta por la membrana basal del EPR, la coriocalilar y los tejidos conectivos elásticos densos y sueltos en el medio. Las células del EPR son un tipo de célula altamente polarizada (Binder et al., 2007). El EPR es fundamental para la función normal de los fotorreceptores. Las células del EPR proporcionan nutrientes y oxígeno, fagocitan los segmentos externos de los conos y bastones, y son fundamentales para la regeneración del fotopigmento. El EPR es una capa altamente pigmentada que absorbe la luz perdida dentro del ojo mientras ayuda a disipar el calor en la retina generado por esta luz y el proceso de fototransducción. Además, las células del EPR secretan citocinas y factores de crecimiento de forma polarizada, lo que es fundamental para el mantenimiento de la coriocalilar y la retina. Específicamente, el VEGF producido por el lado basal de las células del EPR es vital para la salud de la coriocalilar (Nazari et al., 2015).

Todas las capas de la retina están unidas entre sí a través de uniones sinápticas complejas que están conectadas al cerebro y desempeñan un papel fundamental en la creación de imágenes del entorno externo y el aumento de la capacidad de percepción (Alsaeedi et al., 2020) (Fig. 2).

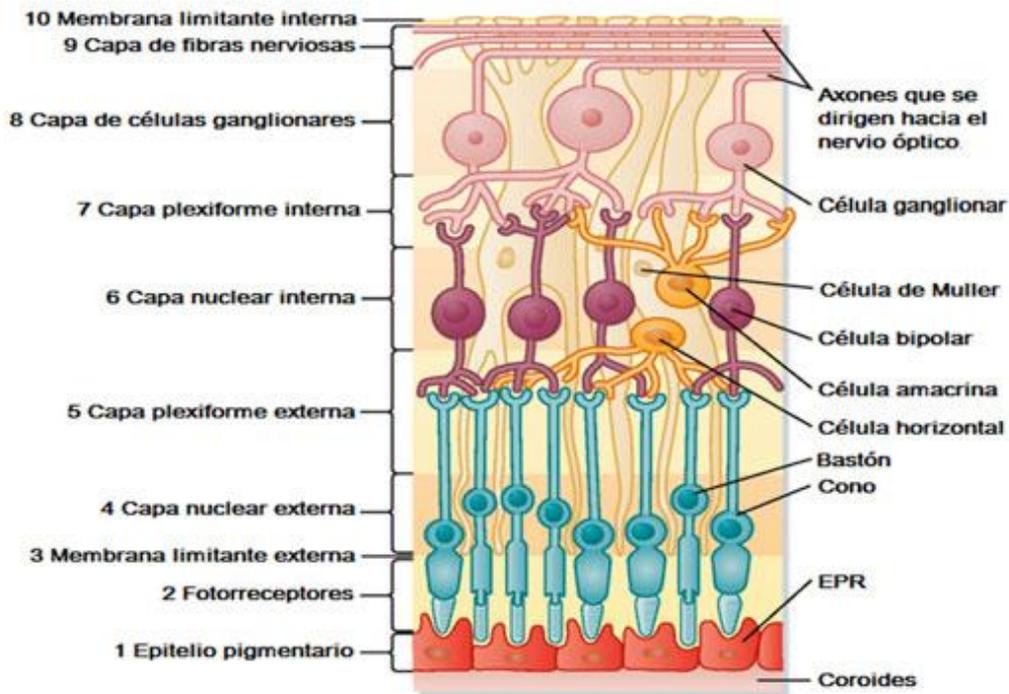


Figura 2. Clases de células retinianas y organización de circuitos. (Visor de libros, n.d.)

1.2. ENFERMEDADES RETINIANAS

Los trastornos degenerativos de la retina son una serie de múltiples enfermedades de la retina que pueden ser adquiridas, como la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética, o hereditarias, como la retinitis pigmentosa. Todo lo cual afecta a las células de la retina y puede conducir a la pérdida de la visión. La degeneración de la retina puede ocurrir en todas las edades. Los estudios epidemiológicos han demostrado que la RP tiene un alto impacto patológico en la población pediátrica y de adultos jóvenes, mientras que la RD afecta a los adultos de mediana edad y la DMAE afecta a los ancianos (Wong et al., 2014). La prevalencia de enfermedades oculares se ha convertido en la principal causa de ceguera en todo el mundo, especialmente en los países en desarrollo (Schémann et al., 2002).

1.2.1. DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD

La DMAE es un trastorno crónico que afecta a la mácula y causa un daño severo en la retina neural (Alsaeedi et al., 2020). Afecta a millones de personas en todo el mundo y es una de las principales causas de ceguera (Klein et al., 2007).

Hay 2 tipos principales de DMAE: DMAE neovascular y no neovascular, que se pueden clasificar según las características específicas de la enfermedad. La DMAE no neovascular (DMAE "seca o atrófica") representa casi el 80% al 85% de todos los casos y generalmente conlleva un pronóstico visual más favorable. La DMAE neovascular (DMAE "húmeda") afecta al 15% al

20% restante y representa aproximadamente el 80% de la pérdida grave de la visión como resultado de la DMAE (Ferris et al., 1984).

La DMAE implica cambios patológicos en las capas retinianas más profundas de la mácula y la vasculatura circundante que dan como resultado la pérdida de la visión central. La acumulación de depósitos retinianos, llamados drusas, es un hallazgo clínico característico de la DMAE. La presencia de drusas maculares puede ser el primer signo de la forma seca de la enfermedad y, a menudo, los pacientes pueden estar asintomáticos.

La DMAE seca es el tipo morfológico más común y puede progresar a DMAE "húmeda" o neovascular, por lo que las membranas neovasculares coroideas centrales (NVC) pueden provocar hemorragia y exudación en la retina y pérdida profunda de la visión. Estas membranas se forman como resultado de una proliferación vascular anormal o angiogénesis debido a la liberación del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

Aunque no existe una cura para la DMAE, las medidas preventivas y proactivas son cruciales. La progresión de la enfermedad se puede retrasar al abordar ciertos factores de riesgo modificables como el tabaquismo, la dieta y las enfermedades cardiovasculares (Chakravarthy et al., 2010). El tratamiento de elección para la DMAE exudativa avanzada son las inyecciones intravítreas con terapia antifactor de crecimiento endotelial vascular (anti-VEGF), en esta terapia se inyecta un fármaco anti-VEGF directamente en el cuerpo vítreo del ojo (administración intravítrea). Actualmente, los tres agentes anti-VEGF intravítreos ampliamente utilizados son ranibizumab, bevacizumab y aflibercept, habiendo demostrado ser tratamientos altamente efectivos que pueden prevenir la ceguera en pacientes con DMAE húmeda (Au et al., 2017; Ba et al., 2015; Park et al., 2017). La mayoría de los pacientes necesitan más de una inyección, típicamente 7 u 8 inyecciones, en el primer año de tratamiento (Stahl, 2020). Sin embargo, la DMAE atrófica permanece sin tratamiento efectivo.

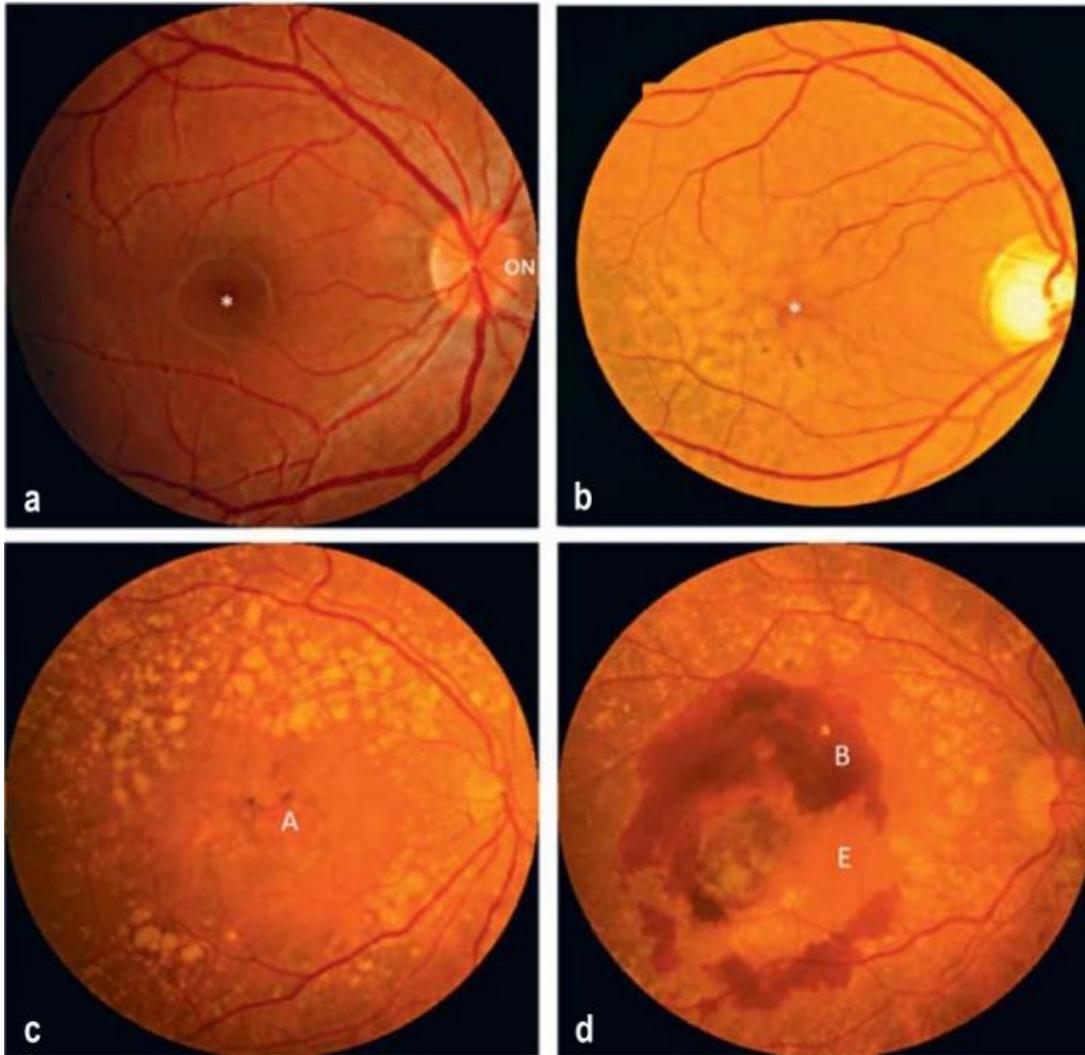


Figura 3: Etapas de la degeneración macular asociada a la edad.

a) Imagen macular juvenil normal. El nervio óptico (NO) se ve a la derecha, cuando ingresa al globo junto con las arterias y venas de la retina. Los vasos sanguíneos forman un arco alrededor de la mácula, que en sí misma está libre de vasos más grandes. Alrededor del centro de la mácula, es decir, la fovea, todavía se puede ver el reflejo macular juvenil fisiológico.

b) DMAE temprana a intermedia, con numerosas drusas parcialmente confluentes, principalmente temporales a la fovea. Las drusas son típicamente depósitos amarillos de productos metabólicos no degradados debajo de la retina.

c) Forma seca (atrófica) de DMAE tardía; se observan muchas drusas a lo largo de las arcadas vasculares y en el centro se observa un área de atrofia en sacabocados.

d) Forma húmeda de DMAE tardía (DMAE exudativa o neovascular); el crecimiento anormal de vasos sanguíneos en el plexo coroideo debajo de la retina ha provocado exudación (E) y sangrado (B) en la mácula. (Thomas et al., 2021).

1.2.2. RETINOPATIA DIABÉTICA

La RD es una complicación importante de la diabetes mellitus (DM), que sigue siendo una de las principales causas de pérdida visual en la población en edad laboral.

El diagnóstico de RD se realiza por manifestaciones clínicas de anomalías vasculares en la retina. Clínicamente, la RD se divide en dos etapas: retinopatía diabética no proliferativa (NPDR) y retinopatía diabética proliferativa (PDR). La NPDR representa la etapa inicial de la RD, en la que el aumento de la permeabilidad vascular y la oclusión capilar son dos observaciones principales en la vasculatura de la retina. Durante esta etapa, las patologías de la retina, incluidos los microaneurismas, las hemorragias y los exudados duros, pueden detectarse mediante la fotografía de fondo de ojo, aunque los pacientes pueden estar asintomáticos. La PDR, una etapa más avanzada de la RD, se caracteriza por la neovascularización. Durante esta etapa, los pacientes pueden experimentar un deterioro grave de la visión cuando los nuevos vasos anormales sangran en el vítreo (hemorragia vítrea) o cuando hay un desprendimiento de retina traccional.

La causa más común de pérdida de visión en pacientes con RD es el edema macular diabético (EMD). El EMD se caracteriza por la inflamación o engrosamiento de la mácula debido a la acumulación de líquido en la mácula subretiniana e intrarretiniana desencadenada por la ruptura de la barrera hematorretiniana (BRB) (Romero-Aroca et al., 2016). El EMD puede ocurrir en cualquier etapa de la RD y causar distorsión de las imágenes visuales y una disminución de la agudeza visual.

Las estrategias de tratamiento actuales para la RD tienen como objetivo controlar las complicaciones microvasculares, incluidos los agentes farmacológicos intravítreos, la fotocoagulación con láser y la cirugía vítrea. La administración intravítrea de agentes anti-VEGF es actualmente el pilar de la terapia para las etapas tempranas y avanzadas de la RD. Mientras que la terapia con láser convencional solo proporciona estabilización de la agudeza visual, la terapia anti-VEGF (ranibizumab y bevacizumab) puede resultar en una mejora visual con menos efectos adversos oculares (Gonzalez et al., 2016).

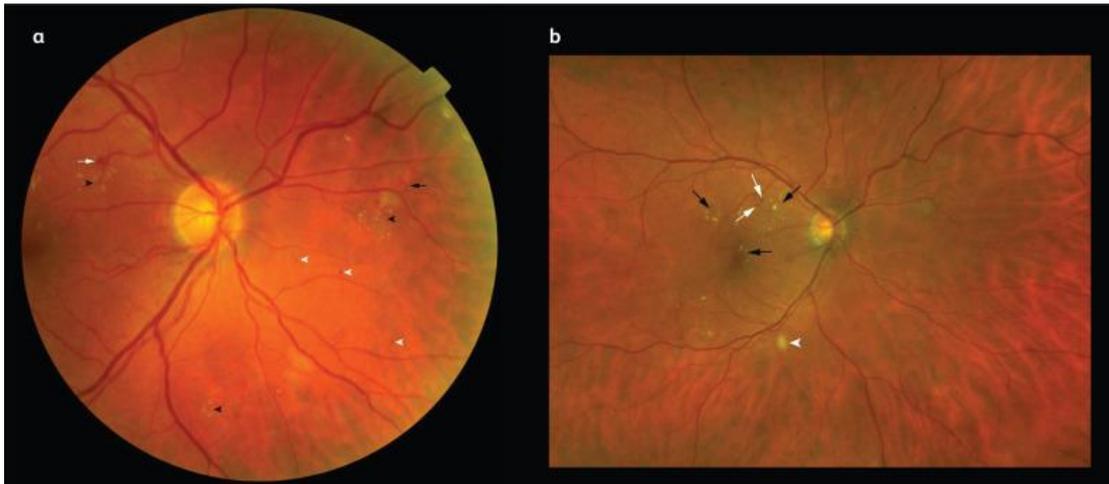


Figura 4: Fotografía en color del fondo de ojo de lesiones de Retinopatía diabética.

a) Una fotografía de un ojo con retinopatía diabética no proliferativa grave que muestra hemorragias en puntos (puntas de flecha blancas) y manchas (flecha blanca), exudados (puntas de flecha negras) y anomalías microvasculares intrarretinianas (segmentos de vasculatura retiniana dilatada y tortuosa en medio de vasos retinianos; flecha).

b) Una fotografía de primer plano de un ojo con edema macular diabético que muestra exudados (flechas negras) y microaneurismas (flechas blancas) en la mácula, se muestra una mancha algodonosa justo fuera de la arcada vascular inferotemporal (punta de flecha blanca) (Fung et al., 2022).

1.2.3. RETINITIS PIGMENTOSA

La RP es una de las enfermedades no tratables entre todos los trastornos oculares, ya que no se ha encontrado un tratamiento dinámico (Kalloniatis y Fletcher, 2004). Es un trastorno degenerativo hereditario de la retina que afecta a las células de la retina y provoca un funcionamiento deficiente de la retina debido a la apoptosis de los fotorreceptores (Kumar et al., 2012). Diversas mutaciones se encuentran en más de 44 genes expresados en los fotorreceptores (Marc and Jones, 2003). La alteración en la expresión de estos genes puede causar un deterioro grave de la visión. Este tipo de enfermedad ocular no tiene limitación para afectar a personas con DMAE, y puede afectar a personas de cualquier grupo de edad (Koenekoop et al., 2003).

Los síntomas iniciales de la RP incluyen una visión tenue con algunas manchas negras en la parte periférica del ojo que pueden progresar durante el proceso de envejecimiento (Kalloniatis y Fletcher, 2004). Los pacientes con RP experimentan una visión de túnel gradual y luego ceguera (Farrar et al., 2002).

1.2.4. ENFERMEDAD DE STARGARDT

La enfermedad de Stargardt es la distrofia macular hereditaria más común en adultos y niños con una prevalencia de 1 en 8000-10000 (Michaelides et al., 2003). Tiene un modo de herencia autosómico recesivo asociado con mutaciones causantes de la enfermedad en el gen *ABCA4* (Allikmets et al., 1997).

El inicio es más común en la niñez, con el siguiente pico en la edad adulta temprana, y con menor frecuencia en la edad adulta tardía, con un mejor pronóstico generalmente asociado con un inicio más tardío (Fujinami et al., 2013). Hay una pérdida progresiva lenta de la función y la estructura de la retina con el tiempo; sin embargo, existe una marcada variabilidad tanto dentro como entre familias, lo que sugiere que otros factores importantes influyen en el fenotipo, incluidos los modificadores genéticos y el medio ambiente (Michaelides et al., 2007).

Los pacientes presentan pérdida visual central bilateral, que incluye discromatopsia y escotomas centrales, con atrofia macular característica y manchas de color blanco amarillento a nivel del EPR en el polo posterior (Michaelides et al., 2003).

Aunque actualmente no existen tratamientos probados, se están explorando tres vías principales de intervención: ensayos clínicos en humanos de terapia con células madre, terapia de reemplazo de genes y enfoques farmacológico (Strauss et al., 2016)

1.2.5. GLAUCOMA

El glaucoma es una enfermedad ocular multifactorial caracterizada por la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina y la pérdida irreversible del campo visual que conduce a la ceguera. Es la segunda causa principal de ceguera en todo el mundo (Cheng et al., 2012; Vadlapudi et al., 2012).

Incluso ahora, la etiología del glaucoma es poco conocida y parece ser un enigma. Sin embargo, se han identificado algunos de los factores de riesgo que contribuyen al glaucoma, que incluyen edad, antecedentes familiares, presión intraocular (PIO) elevada, miopía, diabetes (Coleman & Miglior, 2008). En el glaucoma, la degeneración del nervio óptico comienza en la periferia y avanza hacia el centro, lo que da como resultado una apariencia excavada. El humor acuoso es producido por la secreción de los procesos del cuerpo ciliar que se drena a través de la vía de la malla trabecular y una pequeña porción (10%) por la vía uveoescleral (Alm & Nilsson, 2009; Chen et al., 2011; Fautsch et al., 2006). El equilibrio entre la entrada y salida del humor acuoso determina los niveles de PIO. El flujo de entrada excesivo u obstrucción en el drenaje del humor acuoso a través del ángulo iridocorneal (región yuxtacanalicular o malla trabecular/canal de Schlemm) conduce a una elevación de la PIO que puede causar daño al nervio óptico.

La detección temprana del glaucoma puede ayudar a reducir el riesgo de discapacidad visual y la morbilidad relacionada (Tatham et al., 2014). Una estrategia clásica de tratamiento está dirigida a disminuir la hipertensión ocular, ya que el aumento de la PIO se considera un factor de riesgo importante (Bahrami, 2006).

En la actualidad, los agentes reductores de la PIO de la cámara anterior, como los análogos de las prostaglandinas (latanoprost), los antagonistas β -adrenérgicos (timolol) y los inhibidores de la anhidrasa carbónica (CAI) (dorzolamida, brinzolamida acetazolamida y metazolamida), que actúan aumentando la salida del humor acuoso a través de la vía uveoescleral o reducir la producción de humor acuoso se recomiendan comúnmente (Cholkar et al., 2015).

Bajo condiciones severas de hipertensión ocular donde el tratamiento con medicamentos tópicos no reduce la PIO una de las alternativas es la cirugía con láser y si esta finalmente no funciona y la PIO no está adecuadamente regulada se realiza una trabeculectomía.

1.3. TERAPIA CELULAR

Las terapias celulares tienen la finalidad de prevenir, detener o revertir enfermedades de la retina en pacientes con condiciones de ceguera actualmente incurables. En las últimas 2 décadas, los principales avances en la base fisiopatológica de las enfermedades de la retina, junto con el crecimiento de las nuevas técnicas de terapia génica y terapia celular, constituyen una base prometedora sobre la que fundar tratamientos efectivos para la cura de estas enfermedades (MacLaren et al., 2016).

El ojo, y específicamente la retina, es un objetivo excelente para las terapias de reemplazo celular por varias razones. En primer lugar, el sitio de trasplante y las células se pueden monitorear directamente a través de un examen clínico y dispositivos de imagen retiniana de alta resolución. También hay muchas medidas clínicas de la función visual, incluida la agudeza visual, la sensibilidad al contraste, la microperimetría, la electrofisiología y la adaptación a la oscuridad. En segundo lugar, el pequeño tamaño de los tejidos intraoculares permite el uso de volúmenes y números más pequeños de células de reemplazo en comparación con otros órganos corporales. En tercer lugar, la accesibilidad quirúrgica al ojo y la retina permite la entrega de células en suspensión o como láminas sobre un material de andamiaje que podría promover la supervivencia de las células trasplantadas (Tomita et al., 2005). Finalmente, a diferencia de otras estructuras del sistema nervioso central, la retina contiene una capa no sináptica, el EPR, que puede ser más susceptible al trasplante celular que los fotorreceptores o las células ganglionares de la retina que requieren conexiones sinápticas con las células adyacentes (Strauss, 2005).

Las estrategias actuales para el tratamiento de los trastornos de la retina implican terapias farmacológicas, quirúrgicas y de trasplante celular. La estrategia farmacológica es el método más

frecuente, pero no es eficaz para los trastornos de la retina como la RP (Wong et al., 2014). La intervención quirúrgica se ha intentado como una opción para los tratamientos oculares (MacLaren y Pearson, 2007) mediante la translocación autóloga del epitelio pigmentario de la retina. Sin embargo, los inconvenientes del uso de estos métodos son atribuibles a la mala capacidad de renovación y regeneración de las neuronas de la retina (Wong et al., 2014). El desarrollo de la tecnología de células madre para el tratamiento de la degeneración de la retina ha evolucionado recientemente (Enzmann et al., 2009).

1.3.1. CÉLULAS MADRE

Las células madre son células indiferenciadas, inmaduras, autorrenovables y capaces de generar uno o más tipos de células diferenciadas, caracterizadas por 2 propiedades esenciales; su capacidad de autorrenovación, fundamentada en la proliferación ilimitada y en su conservación como células indiferenciadas, y su habilidad para generar diferentes tipos celulares (óseas, sanguíneas, epidérmicas, cutáneas, neuronas, etc) (Pimentel-Parra y Murcia-Ordoñez, 2017). El cuerpo humano se desarrolla a partir del cigoto y el blastocisto de los que se derivan las células madre embrionarias las cuales, mediante diferenciación hacia distintos linajes, darán lugar a las capas germinales del endodermo, mesodermo y ectodermo. Los órganos específicos surgen de estas capas germinales (Kolios y Moodley, 2013).

Los tratamientos con células madre desarrollados como terapias para la degeneración de la retina se dividen en dos categorías amplias: (1) células madre de fuentes exógenas a la retina, incluidas células madre mesenquimales (MSC), células madre neurales (NSC) y células madre embrionarias/pluripotentes inducidas (ESC/iPSC); y (2) células madre retinales endógenas como Müller glia (Ooto et al., 2004; Reichenbach y Bringmann, 2013), células madre derivadas del epitelio ciliar (Ahmad et al., 2000; Tropepe et al., 2000) y células madre del EPR.

Una posible clasificación de las células madre se puede realizar según su capacidad de diferenciación (de acuerdo con el número de linajes que puede originar) y según su origen (de donde podemos obtenerlas) (Pimentel-Parra y Murcia-Ordoñez, 2017).

1.3.1.1. CÉLULAS MADRE SEGÚN SU CAPACIDAD DE DIFERENCIACIÓN

Obedeciendo a su capacidad o potencial de diferenciación las células madre se clasifican en 3 grandes grupos:

- *Células madre totipotentes*: Pueden ser obtenidas y observadas en las primeras etapas del desarrollo embrionario, cuando el óvulo fecundado está en el proceso de segmentación o clivaje (Marañés Gálvez, 2010). Estas tienen la capacidad de constituir o crear nuevos embriones y formar un organismo completo, ya que pueden diferenciarse en cualquiera de los tipos celulares: tejido embrionario (ectodermo, mesodermo y endodermo) y tejido

extraembrionario (placenta, amnios, saco vitelino, alantoides y corion) (Daley et al., 2016).

- *Células madre pluripotentes*: Poseen la capacidad de diferenciarse en cualquiera de los tejidos o tipo de célula correspondiente a los 3 linajes embrionarios (endodermo, ectodermo y mesodermo), incluyendo las células sexuales o germinal que componen un organismo adulto (Daley et al., 2016; Marañés Gálvez, 2010; Motwani et al., 2016), por consiguiente, no pueden formar un organismo completo. Las células madre pluripotentes se localizan en el polo embrionario del blastocisto; las más estudiadas son las células madre embrionarias o blastemas, que se forman 7 días después de la fertilización (Edwards, 2008).
- *Células madre multipotentes*: Son aquellas capaces de generar células de su propia capa embrionaria, es decir, tejidos del endodermo, ectodermo y mesodermo (Condic, 2014; Daley et al., 2016; Motwani et al., 2016). También se les denomina células madre órgano-específicas y pueden generar un órgano en su totalidad, sea en el embrión o en el individuo adulto (Marañés Gálvez, 2010). Este tipo de células puede obtenerse de una gran variedad de fuentes, entre las que destacan la médula ósea y la sangre del cordón umbilical (Pimentel-Parra et al., 2016).

1.3.1.2. CÉLULAS MADRE SEGÚN SU ORIGEN

Además de su potencialidad, las células madre pueden clasificarse dependiendo de su lugar de origen o procedencia. Generalmente, se dividen en 2 categorías: células madre embrionarias y células madre adultas. Recientemente se ha logrado generar mediante procedimientos *in vitro*, un nuevo tipo, las células madre pluripotenciales inducidas (iPSC) (Byrne et al., 2003).

- *Células madre embrionarias (ESC)*: Se encuentran en las primeras fases del desarrollo embrionario y son capaces de producir cualquier clase de célula del cuerpo ya que al ser células pluripotenciales tienen la capacidad de transformarse en cualquier tipo funcional de los 3 linajes embrionarios (endodermo, mesodermo y ectodermo) (Pimentel-Parra y Murcia-Ordoñez, 2017). Estas pueden ser aisladas de la masa celular interna del embrión a los 4-14 días de desarrollo embrionario (blastocisto) (Motwani et al., 2016), o en las gónadas fetales. En el caso de ser humano el procedimiento normal de obtención es a partir de embriones sobrantes tras la fertilización *in vitro* en las clínicas de reproducción humana (Brena, 2015). Aunque el proceso para obtenerlas no le provoca daño alguno al embrión, los problemas éticos y legales que plantea el uso de embriones humanos hacen que su estudio sea de gran dificultad y dificulte su implementación médica. Otras fuentes de obtención de ESC corresponden a teratomas o carcinomas embrionarios, fetos abortados de entre 5-9 semanas de gestación (García de Insausti, 2012).

- *Células madre adultas (CMA)*: Se clasifican como células madre multipotenciales donde el proceso celular de diferenciación, después de formadas las 3 capas embrionarias, es irreversible (Liu et al., 2016; Maguire, 2016). Esta población de células se encuentra en los tejidos adultos y el cordón umbilical del cual se pueden obtener sin causar daño alguno al embrión (Pimentel-Parra y Murcia-Ordoñez, 2017). Estas células dan lugar a células adultas del tejido en el que se encuentren. El papel de estas células es conservar y restaurar el tejido donde se encuentren; muchos tejidos presentan una población de CMA que no se dividen, pero ayudan a la conservación del tejido, las más conocidas son las pertenecientes a la médula ósea y la piel, que sí suelen dividirse constantemente (De Coppi et al., 2007).

De entre las células madre adultas más estudiadas destacan por su importancia y por sus posibilidades terapéuticas las células madre hematopoyéticas y las células madre mesenquimales.

Los primeros trabajos clínicos realizados con células madre fueron los trasplantes de médula ósea, debido a su fácil obtención y a que es la fuente principal de obtención de células madre, específicamente las CMH, responsables de la producción de todos los tipos celulares sanguíneos, es decir todas las células funcionales que necesita el organismo diariamente en su sangre; representan un papel fundamental en el tratamiento de enfermedades sanguíneas (Eaves, 2015). Por otro lado, la médula ósea no es la única fuente de obtención de CMH, recientemente el cordón umbilical se ha convertido en una fuente de gran relevancia para la obtención de células madre, implicando menos problemas quirúrgicos en su obtención, a diferencia de las proporcionadas por la médula ósea. El cordón umbilical brinda una gran variedad de células madre en las que se incluyen las células madre hematopoyéticas y las células madre mesenquimales (Pimentel-Parra et al., 2016). Las células progenitoras hematopoyéticas de la sangre de cordón umbilical tienen la capacidad de diferenciarse en cualquiera de los 3 tipos de células sanguíneas: eritrocitos, linfocitos o plaquetas (Marañés Gálvez, 2010).

Las MSC son células del estroma que tienen la capacidad de autorrenovarse y también exhiben diferenciación multilinaje, son células multipotentes (Dennis et al., 2002). Las MSC se pueden aislar de una variedad de tejidos, como el cordón umbilical, los pólipos endometriales, la sangre menstrual, la médula ósea, el tejido adiposo, etc (Ding et al., 2006).

- *Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)*: Las iPSC son células madre pluripotentes generadas a partir de células somáticas mediante reprogramación genética celular utilizando factores de transcripción definidos (Kolios y Moodley, 2013). Descritas por primera vez en 2007 por Takahashi *et al.*, pueden generarse a partir de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) y fibroblastos de la punta de la cola de ratón adulto

mediante la transfección mediada por retrovirus de cuatro factores de transcripción, a saber, Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4 (Takahashi y Yamanaka, 2006). Las células iPSC de ratón son indistinguibles de las células humanas en cuanto a morfología, proliferación, expresión génica y formación de teratoma. Además, cuando se trasplantan a blastocistos, las células iPSC de ratón pueden dar lugar a quimeras adultas, que son competentes para la transmisión de la línea germinal (Maherali et al., 2007; Okita et al., 2007; Wernig et al., 2007). Estos resultados son una prueba del principio de que las iPSC pueden generarse a partir de células somáticas mediante la combinación de un pequeño número de factores.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión actualizada de la bibliografía de las principales terapias celulares usadas para el tratamiento de las diferentes enfermedades degenerativas retinianas, así como los diferentes estudios preclínicos y clínicos que se han llevado a cabo hasta la actualidad.

Comenzamos con una breve introducción de la anatomía ocular seguida de la descripción de las distintas enfermedades degeneras retinianas, a continuación, se describe el concepto de terapia celular y de células madre y por último se exponen los diferentes procedimientos para la obtención de las células a trasplantar junto con un repaso de los diferentes ensayos preclínicos y clínicos en terapia celular para tratar las enfermedades retinianas.

3. METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda exhaustiva de información en diferentes fuentes tales como páginas web y bases de datos.

La búsqueda bibliográfica de los artículos científicos ha sido mayoritariamente en las bases de datos Pubmed y ScienceDirect, y se han seleccionado los artículos que han sido publicados durante los últimos 15 años, siendo los más recientes los utilizados para la redacción de la parte de resultados.

Las palabras claves empleadas para en la búsqueda de la información requerida han sido: enfermedad degenerativa retiniana, retinopatía, terapia celular, células madre, trasplante celular; tanto en español como en inglés.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS RETINIANAS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE

La disfunción del EPR provoca un deterioro grave de la visión en pacientes con DMAE atrófica o RP. El reemplazo de células del EPR ha proporcionado evidencias de que la terapia celular puede tener aplicaciones prometedoras para las enfermedades degenerativas de la retina. Sin embargo, la fuente de células del EPR está restringida para aplicaciones en reemplazo de células del EPR debido al número limitado de ojos de donantes y problemas éticos. Las células madre pluripotentes, incluidas las ESC y las iPSC (Takahashi et al., 2007; Takahashi y Yamanaka, 2006; Thomson et al., 1998; Yu et al., 2007) son auto renovables y tienen el potencial para diferenciarse en los tipos celulares de ectodermo, endodermo y mesodermo, como células EPR, células fotorreceptoras y células ganglionares.

En este tipo de estrategias se han intentado obtener células progenitoras retinales, células del EPR y células fotorreceptoras a partir de iPSC y de ESC pluripotentes humanas, gracias a la capacidad de diferenciación espontánea de las células madre pluripotentes (Carr et al., 2009; Haruta et al., 2004; Kawasaki et al., 2002; Klimanskaya et al., 2004; Liao et al., 2010; Lund et al., 2006; Vugler et al., 2008, 2007). En este método, los cultivos adherentes de células ESC/iPSC se diferencian mediante la retirada del medio de cultivo del factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) y en varias semanas aparecen esporádicamente parches de EPR pigmentados en placas de cultivo. Estos parches se pueden aislar de forma manual o enzimática para obtener cultivos casi puros de células EPR. Sin embargo, debido a la baja eficiencia de diferenciación, se requieren múltiples duplicaciones de células para obtener cantidades suficientemente grandes de células del EPR puras. En estas condiciones se debe tener en cuenta que las células epiteliales en condiciones de pases repetidos tienden a perder su carácter epitelial y experimentan un proceso de transición epitelial a mesenquimatoso (EMT) (Singh et al., 2013).

Las MSC derivadas de la médula ósea se pueden diferenciar *in vitro* en células con características del EPR (Duan et al., 2013). La inyección subretiniana de MSC derivadas de la médula ósea ha demostrado una integración directa en la capa del EPR, con una supervivencia prolongada de los fotorreceptores (Arnhold et al., 2007) y una mejora de la degeneración retiniana en modelos animales (Tzameret et al., 2014). La inyección intravítrea de MSC se ha explorado en estudios preclínicos. En un modelo animal de retinopatía diabética, las MSC derivadas de la médula ósea inyectadas intravítreamente se integran en la retina interna y mejoran la función visual (Çerman et al., 2016).

4.2. ENSAYOS CLÍNICOS LLEVADOS A CABO CON CÉLULAS MADRE EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES RETINIANAS

4.2.1. REEMPLAZO CELULAR DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA

El espacio subretiniano es un objetivo único para la terapia basada en células porque es un entorno inmunoprivilegiado. Con esta finalidad, la terapia con células madre consiste en administrar nuevas células del EPR al espacio subretiniano para intentar mantener o mejorar la salud de los fotorreceptores de la retina. Esto puede permitir que las células sensibles a la luz dañadas mejoren o vuelvan a funcionar (Ammar et al., 2020).

El reemplazo de células del EPR derivadas de células madre para el tratamiento de degeneraciones retinianas implica el establecimiento de bancos de células madre pluripotentes humanas preparados bajo Buena Condiciones de práctica de fabricación (GMP) para producir células clínicamente aceptables. Estos podrían derivarse de hESC o de hiPSC derivados de fibroblastos u otros tipos de células somáticas (O'Neill et al., 2019).

Se están probando dos enfoques diferentes para el trasplante de EPR: la inyección de un bolo de suspensión de células del EPR y el trasplante de un parche de monocapa de células del EPR (Bharti et al., 2014).

- Inyección de una suspensión: las células EPR se pueden inyectar como una suspensión de células en el espacio subretiniano. El acceso al espacio subretiniano se logra de dos maneras: a través de una vitrectomía pars plana, desprendimiento del vítreo posterior e inyectando las células a través de una aguja de pequeño calibre, o a través del abordaje supracoroideo y acceso al espacio subretiniano a través de una esclerotomía de espesor parcial. Aunque la capacidad para realizar sus funciones esenciales depende de que el EPR sea una monocapa confluyente con uniones estrechas y mantenga la polaridad para el transporte de iones con una membrana de Bruch sana, se ha demostrado que una inyección subretiniana de células sanas del EPR mantiene o mejora la salud del exterior (Alexander et al., 2015).
- Trasplante de una hoja de EPR: un parche de células EPR se considera un sustrato terapéutico ideal. La monocapa ayuda a realizar sus funciones fisiológicas de manera más eficiente. La formación de uniones estrechas entre las células del EPR ayuda a la polarización óptima de las células, lo que permite su interacción con los segmentos externos de los fotorreceptores y apoya sus variadas funciones. Las células del EPR se cultivan como una monocapa directamente o en un andamio/sustrato. Mandai *et al.* demostraron la supervivencia de 1 año de una hoja de células EPR autólogas derivadas de iPSC inyectadas por vía subretiniana en dos pacientes con DMAE neovascular (Mandai et al., 2017a). Se han probado múltiples andamios como el tereftalato de

polietileno, láminas autólogas de células, parches a base de biomateriales o estructuras tridimensionales (Zhong et al., 2014). Da Cruz *et al.*, han demostrado que un parche de 6 x 3 mm es lo suficientemente grande como para cubrir casi toda el área de una mácula humana. La colocación de un parche tan grande en el área subretiniana requiere una cirugía bastante compleja, con una gran retinotomía y esclerotomía (Da Cruz et al., 2018). Sin embargo, esta cirugía reduce el riesgo de salida de células hacia el vítreo y la formación de membranas epirretinianas (Z. Liu et al., 2021).

➤ Ensayo clínico: Astellas.

Schwartz et al., fueron los primeros en trasplantar EPR derivado de hESC en el espacio subretiniano de pacientes humanos con DMAE y SD (Schwartz et al., 2012).

○ Diseño del estudio.

Se trata de un estudio multicéntrico que incluyó nueve pacientes con DMAE (mediana de edad: 77 años) y nueve pacientes con SD (mediana de edad: 50 años). Para el ensayo se utilizó el peor ojo de cada paciente (con una BCVA igual o inferior a 20/400 o 20/400-20/100).

Había tres cohortes de dosis que iban desde 50.000 células hasta 150.000 células (50.000, 100.000 y 150.000 células hESC-EPR) con 3 pacientes en cada cohorte, con inyección subretiniana de la suspensión celular después de vitrectomía e inducción de desprendimiento vítreo posterior. Específicamente, se inyectaron 150 µL de una suspensión de células hESC-EPR a través de una cánula MedOne PolyTip (23G/38G o 25G/38G), administrando la dosis prevista de células hESC-EPR en la zona de transición de la retina, en el área entre retina/EPR/coriocapilar y retina post-equatorial relativamente sana (Schwartz et al., 2015, 2012).

Debido a la preocupación por las alteraciones genéticas en las iPSC (Lister et al., 2011; Ohi et al., 2011), se utilizaron hESC como célula de origen para diferenciarlas en células del EPR de grado clínico. La línea MA09 hESC se expandió en cultivo y se permitió que se diferenciara en cuerpos embrioides con células del EPR pigmentadas. Las células pigmentadas formaron monocapas hexagonales y se analizaron exhaustivamente en busca de patógenos, reordenamientos cromosómicos, pureza, ensayos de fagocitosis (funcionales) y estudios de diferenciación mediante PCR cuantitativa e inmunotinción.

El análisis preclínico de seguridad y eficacia se realizó en tres modelos animales (Lu et al., 2009), en ratas del Royal College of Surgeons (RCS) y ratones mutantes Elov14, las células del EPR derivadas de hESC se inyectaron por debajo de la retina para confirmar la integración del EPR humano trasplantado en estos modelos de degeneración retiniana. La función visual y los umbrales de sensibilidad a la luz mejoraron sin evidencia de formación de tumores o respuesta

inflamatoria. Además, el trasplante de EPR derivado de hESC en ratones inmunodeficientes III de los Institutos Nacionales de Salud se mostró sin evidencia de formación de teratoma o metástasis.

- Inmunosupresión y otros problemas de seguridad.

Una preocupación importante con el trasplante subretiniano de células EPR derivadas de hESC es el potencial de rechazo inmune a las células. Esta respuesta inmunitaria podría no solo eliminar las células trasplantadas, sino también provocar daños colaterales en las células huésped vecinas. La dosis de inmunosupresión utilizada por Schwartz et al., incluyó tacrolimus y micofenolato mofetilo una semana antes y hasta 6 semanas después del tratamiento, seguido de micofenolato mofetilo solo durante 6 semanas adicionales (Schwartz et al., 2015). Es importante destacar que no se observó inflamación subretiniana en ninguno de los pacientes tratados. Sin embargo, la capacidad de tolerancia de este régimen inmunosupresor en pacientes de edad avanzada estuvo relacionada con la mayoría de los eventos adversos sistémicos observados en los estudios piloto. Estos incluyeron una infección del tracto urinario y dos cánceres de piel no melanoma. El grado en que es necesaria la inmunosupresión con dosis de trasplante debe analizarse en ensayos futuros. Además, el uso de iPSC autólogas o iPSC con antígenos leucocitarios humanos (HLA) compatibles podrían considerarse soluciones potenciales para evitar problemas de rechazo e inmunosupresión (Schwartz et al., 2016, 2015, 2012).

- Resultados del estudio de trasplante de EPR derivados de hESC.

Al interpretar los resultados de los estudios de Fase I/II, es importante tener en cuenta que los estudios se diseñaron como un primer estudio de seguridad en humanos.

El criterio principal de valoración fue la seguridad de las células del EPR derivadas de hESC en estas dos poblaciones de pacientes. Los criterios de valoración secundarios incluyeron la agudeza visual, los campos visuales, la oftalmoscopia, la tomografía de coherencia óptica (OCT), la autofluorescencia del fondo de ojo, la angiografía con fluoresceína y la electrorretinografía. Un médico internista realizó exámenes físicos seriados y análisis de sangre.

Las células EPR derivadas de hESC fueron bien toleradas sin ningún evento adverso relacionado con las propias células. 13 de 18 pacientes mostraron pigmentación subretiniana, evidencia potencial de integración celular y supervivencia. Esta pigmentación se produjo en el borde de la atrofia (zona de transición) con cierto grado de engrosamiento de la capa del EPR en la OCT (Schwartz et al., 2015a, 2012).

Los resultados visuales en estos estudios piloto deben interpretarse con precaución. El estudio fue pequeño e incluyó pacientes con enfermedad avanzada y controles no enmascarados. Los números eran demasiado pequeños para el análisis estadístico significativo (Hanley y Lippman

Hand, 1983). Además, las mediciones de agudeza visual pueden ser difíciles en pacientes con DMAE atrófica avanzada (Sunness, 2015). Sin embargo, la mejor agudeza visual corregida, monitoreada como parte del protocolo de seguridad, mejoró notablemente en 10 ojos, mejoró o permaneció igual en 7 ojos y disminuyó en más de 10 letras en 1 ojo, mientras que los ojos contralaterales no tratados no mostraron mejoras similares en la agudeza visual (Schwartz et al., 2015, 2012).

Estos resultados del primer uso en humanos de EPR derivado de hESC para el tratamiento de dos formas de degeneración macular son alentadores y han sentado las bases para futuros ensayos. El siguiente paso es realizar ensayos multicéntricos aleatorizados utilizando imágenes y medidas funcionales más avanzadas para determinar mejor la eficacia. Estos estudios también deben definir el estado ideal de la enfermedad en el que intervenir, lo que puede implicar el estudio de ojos con pérdida de visión leve a moderada y sin atrofia geográfica (Singh et al., 2020).

➤ Ensayo clínico: Tecnología de parches regenerativos.

El instituto RIKEN (Mandai et al., 2017b) implicó el uso de una lámina celular sin andamiaje extrínseco; sin embargo, un enfoque alternativo es abordar específicamente los cambios degenerativos en la membrana de Bruch nativa en pacientes con DMAE mediante la inclusión de un reemplazo de membrana de Bruch sintética como parte de un implante compuesto. Kashani y sus compañeros del Roski Eye Institute de la Universidad del Sur de California informaron recientemente los resultados provisionales de un ensayo clínico de Fase I/II (identificador de [Clinicaltrials.gov NCT02590692](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02590692)) que evalúa un implante compuesto de EPR derivado de hESC y un sustrato sintético de este tipo en el ojo de peor agudeza visual de sujetos con DMAE avanzada (Kashani et al., 2018).

○ Diseño de estudio y andamio.

El estudio incluyó dos cohortes, cada una de 10 pacientes, incluyó edades entre 55 y 85 años. Para la primera cohorte, la población del estudio serán pacientes con DMAE seca y avanzada con evidencia de atrofia significativa que afecta a la fovea. Estos pacientes tendrán una pérdida significativa de la visión central con una mejor agudeza visual corregida (BCVA) del ojo al que se les implantará una BCVA de 20/200 o peor. Cada uno de estos pacientes tendrá una pérdida sustancial de EPR y fotorreceptores. Se examinará a los pacientes para determinar su estado general de salud a fin de minimizar los riesgos asociados con la cirugía de retina y cualquier inmunosupresión posterior.

Las células del EPR derivadas de ESC humanos (derivadas de la línea NIH-H9), junto con un sustrato de membrana de parileno no biodegradable, se denominaron Proyecto de California para curar la ceguera: epitelio pigmentario de la retina 1 (CPCB-RPE1). La membrana de parileno utilizada en este estudio tenía solo seis micras de espesor con una superficie anterior no porosa

que permitía la adherencia de la capa de células ESC-RPE suprayacente. También presentaba un patrón de muescas circulares, cada una de aproximadamente 50 micras de diámetro, que tenían menos de una micra de espesor. Esta membrana imitaba a la membrana de Bruch en sus características de exclusión molecular. Estas regiones circulares permitieron la difusión bidireccional de solutos, incluidos nutrientes y factores de crecimiento, lo que favoreció la supervivencia de las células ESC-RPE suprayacentes después del trasplante. La construcción CPCB-RPE1 medía 3,5 mm × 6,25 mm y soportaba aproximadamente 100 000 células ESC-RPE maduras en su superficie, por lo que teóricamente podría regenerar un parche de mácula de casi 22 mm².

El protocolo aprobado por la FDA incluía CPCB-RPE1 y unas pinzas de inserción quirúrgica diseñadas a medida que se utilizaron para la implantación. La inmunosupresión especificada por el protocolo fue con tacrolimus desde el día -8 hasta el 60 con una disminución gradual de la dosis a partir del día 42. El procedimiento quirúrgico implicó un abordaje *ab interno* del espacio subretiniano a través de un procedimiento estándar de vitrectomía pars plana y una retinotomía de 1 mm que se selló con láser.

- Resultados.

Dieciséis sujetos se inscribieron en el estudio y a 15 se les implantó el implante CPCB-RPE1, con un seguimiento completo durante al menos 365 días, la media de edad de los sujetos fue de 78 años (rango, 69-85) (Kashani et al., 2021). Como un estudio de Fase 1/II, este protocolo no fue diseñado para detectar cambios en la función visual. Los ojos tratados de todos los sujetos estaban legalmente ciegos con una agudeza visual mejor corregida (MAVC) inicial de $\leq 20/200$. No hubo eventos adversos graves inesperados. Cuatro sujetos en la cohorte 1 tuvieron eventos adversos oculares graves, que incluyeron hemorragia retiniana, edema, desprendimiento de retina focal o desprendimiento de EPR, que se mitigó en la cohorte 2 mediante hemostasia mejorada durante la cirugía. Aunque este estudio no tuvo el poder estadístico para evaluar la eficacia, los ojos tratados de cuatro sujetos mostraron un aumento de la BCVA de >5 letras (6–13 letras). Una mayor proporción de ojos tratados experimentó una ganancia de >5 letras en comparación con el ojo no tratado (27 %) y una mayor proporción de ojos no implantados mostró una pérdida de >5 letras (47 %) (Kashani et al., 2021).

La última observación indica que la unión de las células ESC-EPR probablemente se mantuvo en el sustrato de parileno durante y después del procedimiento de implantación quirúrgica, conteniendo así los derivados de células madre en un lugar confinado durante este período.

Las imágenes in vivo de alta resolución de la anatomía de la retina suprayacente en sujetos mostraron signos de una posible restauración de la lámina retiniana externa en algunas regiones que recubren el implante. Los autores interpretaron estos datos de imágenes como una posible

restauración de la capa de fotorreceptores y/o integración con las células ESC-RPE del implante CPCB-RPE1, aunque actualmente no se dispone de correlaciones histológicas.

4.2.2. TRASPLANTE DE FOTORRECEPTORES

La restauración de la vista en pacientes ciegos por la pérdida física de fotorreceptores ha sido durante mucho tiempo un objetivo de la ciencia de la visión. Estudios pioneros llevados a cabo a finales de la década de 1980 y principios de la de 1990 en modelos de roedores mostraron la factibilidad de trasplantar células de la retina neural fetal como una estrategia potencial para regenerar células fotorreceptoras (Blair y Turner, 1987; Del Cerro et al., 1988; Notter et al., 1989; Turner y Cepko, 1988; Turner y Blair, 1986). Estos estudios sugirieron que las células trasplantadas podrían ser capaces de lograr cierto grado de integración en la retina huésped, incluida la formación de conexiones sinápticas (Cerro et al., 1991; Gouras et al., 1991; Notter et al., 1989).

Los objetivos más inmediatos para las terapias regenerativas de fotorreceptores son la DMAE y las distrofias retinianas hereditarias como la RP y la enfermedad de Stargardt (Levin et al., 2017; Zarbin, 2016).

➤ Ensayo clínico.

Estas observaciones llevaron a algunos grupos a emprender un enfoque similar para el tratamiento de pacientes humanos utilizando células progenitoras retinales derivadas de fetos provenientes de abortos (fRPC) como fuente de donantes.

○ Diseño del estudio.

Los fRPC se obtienen de la retina de fetos de abortos humanos entre las semanas 14 y 20 de gestación, momento en el que los progenitores de fotorreceptores en el neuroepitelio retiniano en desarrollo están saliendo del ciclo celular y experimentando su correspondiente proceso de diferenciación (Hendrickson et al., 2008). fRPC se han trasplantado en pacientes afectados por RP y DMAE, utilizando varios enfoques que incluyen el trasplante de suspensiones de microagregados de fRPC, láminas de retina neural fetal que consisten en una capa de células fotorreceptoras aisladas o un componente retinal completo, láminas de EPR o retina neural con EPR asociado (Das et al., 1999; Humayun et al., 2000; Radtke et al., 2008).

○ Resultados.

Un resultado importante de estos estudios es la aparente falta de efectos adversos (Seiler y Aramant, 2012). Además, como se informó en (Radtke et al., 2008) con respecto a un ensayo clínico de fase II en el que se trasplantaron láminas de retina fetal/EPR en 10 pacientes con RP y DMAE, este tratamiento condujo, en cierto nivel, que la impotencia visual a corto plazo mejora, según lo evaluado por las puntuaciones de agudeza visual EDTRS hasta 12 meses después de la

cirugía. Sin embargo, no se observaron beneficios a largo plazo, excepto en el caso de un paciente que mantuvo la mejoría visual a los seis años de seguimiento. No se sabe si la mejoría se debió a un efecto trófico del implante o a la integración funcional de las células trasplantadas.

➤ Otros estudios.

El hallazgo de las células madre pluripotentes, inicialmente ESC y más recientemente iPSC, proporciona una fuente alternativa prometedora para intentar la regeneración de fotorreceptores a través del trasplante de células (Jayakody et al., 2015).

Una cantidad significativa de estudios se han centrado en el trasplante subretiniano de una suspensión de precursores de fotorreceptores derivados de ESC/iPSC humanos o de ratón en modelos de degeneración de fotorreceptores en roedores. Estos estudios mostraron resultados similares a los obtenidos con fRPC, lo que sugiere que los precursores de fotorreceptores derivados de ESC/iPSC fueron capaces de integrarse en la retina del huésped, logrando una diferenciación morfológica y funcional similar a los fotorreceptores nativos, y la restauración de la función visual al menos hasta cierto punto (Barnea-Cramer et al., 2016; Decembrini et al., 2014; Homma et al., 2013; Santos-Ferreira et al., 2016).

Estudios históricos posteriores descubrieron que una baja proporción de las células trasplantadas pueden integrarse en la retina del huésped, pero la mayoría experimenta un mecanismo de intercambio de material intercelular con los fotorreceptores del huésped (Pearson et al., 2016; Santos-Ferreira et al., 2016; Singh et al., 2016, 2014). Esta transferencia ocurre independientemente de la fuente de los fotorreceptores del donante, puede estar mediada tanto por bastones como por conos y es bidireccional entre las células del donante y del huésped (Ortin-Martinez et al., 2017; Singh et al., 2016; Waldron et al., 2018). Estas observaciones plantean la necesidad de reevaluar y reinterpretar estudios previos de trasplante de fotorreceptores, así como caracterizar cuidadosamente la contribución relativa a la restauración de la función a partir de la transferencia de material y del donante.

Con los datos de prueba de concepto descritos anteriormente, los investigadores del Kobe City Eye Hospital comenzaron el primer estudio clínico utilizando iPSC-retina humana para ojos con RP avanzada en 2020. La cirugía fue exitosa en dos pacientes y hasta la fecha no se han informado eventos adversos. Dado que la hoja de injerto se prepara a partir de organoides retinianos, el tamaño de la iPSC-retina humana trasplantada es muy pequeño, aproximadamente 1 mm de diámetro, lo que puede limitar la eficacia esperada. Por lo tanto, una vez que se confirme la practicidad y seguridad de este abordaje, sería fundamental una estrategia para aumentar el área trasplantada para asegurar una eficacia adecuada (Maeda et al., 2022).

4.2.3. TRASPLANTE DE CÉLULAS GANGLIONARES

La terapia de reemplazo de células ganglionares de la retina (RGC) podría restaurar la visión en el glaucoma y otras neuropatías ópticas (Luo et al., 2022).

➤ Ensayo clínico.

En un estudio clínico, las células madre pluripotentes inducidas por humanos (hiPSC) se diferenciaron in vitro en RGC maduras y funcionales, se marcaron con AAV2.7m8-SNCG-eGFP y se trasplantaron intravítreamente en ratones C57BL/6J de 4 meses de edad de tipo salvaje.

○ Resultados.

La supervivencia de las hiPSC-RGC trasplantadas se evaluó mediante fotografía de fondo de ojo en color y los estudios histológicos confirmaron la localización de las hiPSC-RGC trasplantadas dentro de la retina. Se detectaron hiPSC-RGC en 15 de los 16 ratones de tipo salvaje, con una tasa promedio de trasplante exitoso de alrededor del 94 %. En general, un promedio de 672 hiPSC-RGC de donante fueron visibles por retina huésped explantada. Las RGC trasplantadas se integraron dentro de la capa de células ganglionares de las retinas del huésped y sobrevivieron al menos 5 meses después del trasplante. Además, los hiPSC-RGC trasplantados eran funcionales y mostraban perfiles electrofisiológicos similares a los de los RGC nativos de ratón. Estos experimentos proporcionarán estrategias clave para mejorar la eficacia de la terapia de reemplazo de células madre para enfermedades neurodegenerativas, incluido el glaucoma (Vrathasha et al., 2022).

4.2.4. TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS DE RETINA HUMANA

Las RPC son un tipo de célula que se encuentra en la retina neural en desarrollo y que se puede cultivar (Klassen et al., 2004). Estas células inmaduras son mitóticamente activas y multipotentes, es decir, capaces de diferenciarse tanto en neuronas como en glía. Las RPC son análogas a otras células progenitoras neurales que se encuentran en otras partes del sistema nervioso central (SNC) en desarrollo, con la salvedad de que se diferencian preferentemente en tipos de células retinales como las neuronas fotorreceptoras y la glía de Mueller (M. S. Singh et al., 2020).

Esfuerzos más recientes en este campo incluyen el uso de tipos de células de origen ocular, es decir, RPC aisladas de ojos fetales humanos, para atacar formas hereditarias de RP (Klassen, 2015; Luo et al., 2014; Schmitt et al., 2009). JCyte, una empresa con sede en California, está probando la administración intravítrea de RPC (identificador de [Clinicaltrials.gov NCT03073733](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03073733)) mientras que Reneuron, una empresa con sede en Boston, está probando la administración subretiniana de células similares para RP (identificador de [Clinicaltrials.gov NCT02464436](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02464436)). El trasplante de RPC como tratamiento potencial de la degeneración retiniana es posiblemente más específico en su mecanismo terapéutico en

comparación con las células madre derivadas de la médula ósea o las células madre neurales. La evidencia preclínica sugiere que, al menos en algunos casos, las RPC trasplantadas conservan su capacidad para diferenciarse en ciertos tipos de células de la retina, aunque con poca eficiencia (Baranov et al., 2014; Tucker et al., 2010; Yao et al., 2015). Por lo tanto, el trasplante de RPC subretiniana puede crear un efecto de reparación de tejido permanente a través de la regeneración real de los fotorreceptores.

➤ Ensayo clínico: JCyte.

El trasplante de RPC para el tratamiento de la RP se encuentra en fase clínica de desarrollo, patrocinado por la empresa JCyte (Newport Beach, CA). Se completó un ensayo inicial de fase I/IIa ([NCT02320812](#)) y esos pacientes ingresaron automáticamente en un estudio de extensión. Mientras tanto, un ensayo de fase IIb enmascarado ([NCT03073733](#)) ha completado la inscripción (Singh et al., 2020).

○ Diseño del estudio.

Las RPC alogénicas, originalmente derivadas y expandidas de tejido de donante fetal, y criopreservadas en alícuotas del tamaño de una dosis, se descongelan y se vuelven a cultivar brevemente antes de su uso. Las células se administran directamente en la cavidad vítrea, como una suspensión de una sola célula. Aparte de una administración breve de esteroides tópicos con el objetivo de mitigar la inflamación relacionada con el procedimiento de inyección, no se usa inmunosupresión.

Los pacientes de 18 años de edad y mayores eran potencialmente elegibles y finalmente se inscribió una amplia gama de edades. Los pacientes se dividieron en dos cohortes según la evaluación visual inicial. En aras de la seguridad, los pacientes de la primera cohorte se vieron más gravemente afectados, con una agudeza visual mejor corregida (BCVA) que oscilaba entre "movimientos de las manos" y 20/200. La cohorte de seguimiento tenía una visión algo mejor, con un rango de 20/200 a 20/63. En cualquier caso, los campos visuales estaban severamente restringidos y la fijación central estaba ausente o alterada.

La dosis inicial ensayada fue de 0,5 millones de células. Después de una serie de revisiones por parte de un DSMB externo, el nivel de dosis se elevó secuencialmente a 1, 2 y finalmente a 3 millones de células (Singh et al., 2020).

○ Resultados.

Después del tratamiento, todos los pacientes fueron seguidos durante un período de 12 meses con BCVA en ese momento (frente al ojo contralateral) utilizado como medida de resultado primaria. Dada la naturaleza implacable de la RP, combinada con el curso lento de la progresión, el uso de BCVA fue una opción controvertida porque no se esperaba que demostrara cambios positivos

relacionados con el tratamiento, particularmente durante el período de tiempo relativamente breve de 1 año evaluado.

Se inscribió un total de 28 pacientes en el ensayo ([NCT02320812](#)), que se completó en agosto de 2017. En general, las células de investigación fueron bien toleradas, con un perfil de seguridad favorable. La mayoría de los eventos adversos (EA) registrados se anticiparon basándose únicamente en el procedimiento de inyección, como dolor ocular transitorio e inyección o hemorragia conjuntival. Más allá de eso, hubo casos de inflamación del segmento anterior de leve a moderada que respondieron al tratamiento con esteroides convencionales. Cabe señalar que estos eventos inflamatorios no se asociaron con la destrucción de los injertos intravítreos y, por lo tanto, no constituyeron un rechazo inmunitario clásico.

No hubo eventos adversos oculares graves (SAEs). Se declaró un SAE sistémico único basado en dolor de pierna de nueva aparición asociado con dificultad para deambular en un sujeto con discapacidad visual. El caso se estudió extensamente y, en última instancia, se concluyó como poco probable que estuviera relacionado con el tratamiento.

Hubo informes subjetivos generalizados de mejora gradual en varios aspectos de la función visual. Estos informes anecdóticos fueron respaldados por medidas objetivas de BCVA. La agudeza de los ojos tratados fue superior a la de los ojos no tratados a los 6 y 12 meses. La evidencia del efecto del tratamiento pareció más pronunciada para el nivel de dosis más alto: el cambio medio en BCVA desde el pretratamiento hasta el mes 12 (ojo tratado menos ojo no tratado) fue de 3,64 letras para todos los sujetos (subgrupos: 1,38 letras para el grupo de dosis de 0,5M, 1,00 letras para el grupo de dosis 1,0 M, 4,83 letras para el grupo de dosis 2,0 M y 9,00 letras para 3,0 M hRPC). La BCVA también se elevó en relación con el valor inicial en los ojos tratados, lo que concuerda con una mejora real en la resolución visual, en lugar de solo una desaceleración del deterioro visual (Kuppermann et al., 2018).

Los 28 pacientes ingresaron en una extensión del ensayo de fase I/IIa y se les ofreció un único tratamiento en el ojo contralateral. La mayoría de los pacientes optaron por recibir un tratamiento bilateral. Además, se introdujeron una prueba de movilidad (laberinto) y otras evaluaciones como parte de las pruebas de seguimiento. Nuevamente, no se usó la supresión inmunológica, aunque una dosis repetida presenta un desafío inmunológico potencialmente mayor, y estos segundos injertos también han sido bien tolerados hasta la fecha.

- Trabajo futuro.

Sobre la base de los prometedores resultados del ensayo de fase I/IIa, se inició un ensayo clínico de prueba de concepto de fase IIb ([NCT03073733](#)) con el objetivo de demostrar la eficacia en un estudio enmascarado con un brazo de control. Este estudio enmascarado incluye dos niveles

de dosis y un grupo de inyección simulado. El objetivo es inscribir un número suficiente de pacientes para obtener resultados finales de un mínimo de 25 sujetos por grupo con fines estadísticos. La inscripción se completó en junio de 2018.

Desde una perspectiva estrictamente biológica, el trasplante de RPC intravítreo parece ser útil a nivel de pacientes individuales. Dado que aún no está aprobado para uso general, se requerirá una mayor validación, junto con pasos adicionales en el proceso de traducción. Estos incluyen la finalización del ensayo clínico de fase IIb actual, la transferencia de tecnología en curso y la ampliación de la fabricación en una organización de fabricación comercial (CMO), así como un futuro ensayo fundamental de fase III utilizando un producto comercial.

El uso de RPC intravítreos en la RP es una herramienta terapéutica prometedora como tratamiento para esta condición devastadora e intratable. Hasta ahora, el tratamiento se ha restringido necesariamente a pacientes en una etapa avanzada de progresión de la enfermedad, por lo tanto, con discapacidad visual severa. Será interesante ver cómo este efecto neurotrófico afecta a los pacientes en diferentes etapas de la enfermedad.

4.2.5. TRASPLANTE DE CÉLULAS DE LA MÉDULA ÓSEA

Las CMH se extraen de la médula ósea y, a menudo, se identifican mediante el marcador de superficie celular CD34 en humanos. Estas células madre son plásticas y se han utilizado para trasplantes alogénicos de médula ósea durante muchos años en la práctica clínica para tratar trastornos hematológicos (Goodell et al., 2015).

Estas CMH no se replican fácilmente y no se pueden expandir en cultivo (S. S. Park et al., 2017). Esta característica de las células madre hematopoyéticas limita el número de células que se pueden administrar para el tratamiento regenerativo. Sin embargo, esta característica de las células madre CD34+ teóricamente las hace menos teratogénicas y potencialmente más seguras para aplicaciones clínicas. Los estudios preclínicos a largo plazo no han mostrado problemas de seguridad después de la inyección intravítrea de células CD34+ humanas de la médula ósea en ratones NOD-SCID con lesión isquémica retiniana aguda (Park et al., 2012). No hubo proliferación anormal de células humanas en el ojo o sistémicamente después de la inyección intravítrea de células CD34+ humanas.

Basado en el prometedor perfil preclínico de seguridad y eficacia de la inyección intravítrea de células madre hematopoyéticas de médula ósea/células madre CD34+ humanas, investigadores de la Universidad de California Davis han iniciado un ensayo clínico de fase inicial que explora la inyección intravítrea de células madre autólogas CD34+ aisladas de médula ósea como tratamiento para condiciones retinianas isquémicas y degenerativas (Park et al., 2015).

➤ Ensayo clínico: UC Davis.

El equipo de investigadores de la Universidad de California Davis ha realizado con éxito la transición del banco a la clínica explorando el potencial regenerativo de la retina de la inyección intravítrea de células madre humanas CD34+ extraídas de la médula ósea. Esto se logró completando todos los estudios preclínicos de seguridad solicitados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y completando una solicitud de autorización de la FDA para un nuevo fármaco en investigación (IND).

○ Datos de fondo.

Los investigadores seleccionaron células CD34+ de la médula ósea como terapia de células diana, ya que se sabe que estas células se movilizan hacia la circulación sistémica desde la médula ósea en respuesta a una lesión tisular como parte del mecanismo de reparación normal del cuerpo (Asahara et al., 1997; Park, 2016). Mediante la introducción de estas células de reparación directamente en el ojo a través de una inyección intravítrea, el objetivo es mejorar el mecanismo de reparación normal del cuerpo.

Los efectos oculares y sistémicos a largo plazo de la inyección intravítrea de células CD34+ humanas de la médula ósea se estudiaron en ratones NOD-SCID con lesión retiniana aguda por isquemia-reperfusión (Park et al., 2012). Algunas de estas células humanas inyectadas se observaron integradas en la vasculatura de la retina del ratón a largo plazo sin ninguna proliferación celular anormal en el ojo o en cualquier órgano principal del cuerpo. Se observó una normalización aparente de la vasculatura retiniana murina a largo plazo.

La FDA autorizó la solicitud de IND para la inyección intravítrea de células madre autólogas CD34+ aisladas de la médula ósea para poder iniciar un ensayo clínico que explore esta terapia celular como un tratamiento potencial para la pérdida de visión asociada con afecciones retinianas isquémicas o degenerativas. Los investigadores eligieron la terapia con células autólogas porque evita el uso de inmunosupresión sistémica que puede tener efectos secundarios sistémicos significativos (Schwartz et al., 2015). El tratamiento con células CD34+ se está explorando en un ensayo clínico para varios trastornos retinales isquémicos y degenerativos diferentes, ya que los estudios preclínicos indican que los efectos terapéuticos de las células madre CD34+ no se limitan a una enfermedad en particular y pueden tener amplias aplicaciones clínicas (Park et al., 2017).

○ Diseño del estudio.

Se inició un estudio clínico piloto de un solo centro en UC Davis para explorar la seguridad y la viabilidad de la inyección intravítrea de células CD34+ aisladas de la médula ósea (identificador de [Clinicaltrials.gov NCT01736059](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01736059)). Hasta la fecha, el estudio ha reclutado y tratado nueve ojos de nueve sujetos con pérdida de visión persistente debido a diversas afecciones de la retina. Incluyen degeneración macular relacionada con la edad hereditaria o no exudativa, retinitis

pigmentosa, oclusión de la vena retiniana y retinopatía diabética. Como estudio de fase I, este es un estudio de etiqueta abierta diseñado para determinar la seguridad y viabilidad de este tratamiento experimental. Como tal, solo un ojo con la peor agudeza visual se trata con la terapia celular experimental y la pérdida de visión en este ojo tiene que ser de larga duración y moderadamente severa (mejor agudeza visual corregida de 20/100 o peor o campo visual restringido dentro de 10 grados).

La aspiración de médula ósea se realizó de forma ambulatoria y bajo anestesia local por un hematólogo experimentado. El procedimiento fue bien tolerado por los sujetos del estudio. Se podría aislar un número deseado de células CD34+ a partir de un solo aspirado de médula ósea. El aislamiento y enriquecimiento de células CD34+ se realizó en condiciones de buenas prácticas de fabricación (GMP) en un laboratorio certificado dentro del Instituto Davis de Curas Regenerativas de la Universidad de California. Las células CD34+ aisladas se resuspendieron en un pequeño volumen de solución salina para inyección intravítrea. La inyección intravítrea se realizó puntualmente y el mismo día que la aspiración de médula ósea. El volumen completo de 0,1 ml de células CD34+ aisladas se inyectó por vía intravítrea 4 mm por detrás del limbo infratemporal por un especialista en retina experimentado (SSP) utilizando una aguja corta de calibre 30.

Las personas que reciben inmunosupresión sistémica están excluidas de la inscripción en el estudio, ya que dicho tratamiento alterará la médula ósea. Las mujeres embarazadas están excluidas para evitar riesgos desconocidos para el feto. Los niños y los presos también están excluidos, ya que se consideran poblaciones vulnerables.

- Resultados.

Los resultados del estudio de fase I mostraron que la inyección intravítrea de células CD34+ autólogas era factible y no estaba asociada con problemas de seguridad importantes. Se han publicado los hallazgos de los primeros seis ojos de seis sujetos inscritos y tratados en este estudio prospectivo abierto. Todos completaron el período de seguimiento de 6 meses y eran adultos jóvenes excepto los dos sujetos con DMAE (rango de edad, 23–85 años; media, 48 años). La mejora en la BCVA osciló entre 0 y 11 líneas en el gráfico de agudeza visual ETDRS durante los 6 meses de seguimiento (mejoría media de tres líneas). Se observó una mejora de dos o más líneas de BCVA (es decir, 10 letras o más) en cuatro de seis sujetos durante el curso del estudio. La mejora en la BCVA fue mayor en el sujeto 1 con oclusión vascular retiniana en comparación con los otros sujetos que tenían condiciones degenerativas de la retina. El curso temporal de la mejora varió entre los sujetos. Sin embargo, se observó alguna mejora en la medición de la BCVA en todos los sujetos al mes de seguimiento. La mayor parte de la mejora se mantuvo durante el período de seguimiento de 6 meses, con algunas fluctuaciones. Sin embargo, la BCVA final a los

6 meses de seguimiento generalmente estuvo dentro de una línea de la agudeza visual mejor medida durante el período de seguimiento (Park et al., 2015).

Se han inscrito y tratado tres sujetos adicionales sin ningún problema de seguridad o viabilidad desde la publicación de 2014. La inyección fue realizada por un especialista en vitreorretina en la clínica oftalmológica. Fue bien tolerado por todos los sujetos del estudio. No se observaron efectos adversos durante el período de seguimiento de seis meses del estudio y durante el seguimiento prolongado como parte del estándar de atención.

Aunque el estudio de fase I no está diseñado para evaluar la eficacia, se observaron diversos grados de ganancia visual en muchos ojos tratados. En algunos sujetos, se utilizaron instrumentos de imagen retiniana in vivo de alta resolución para visualizar los cambios celulares dentro de la retina después de la terapia celular. Las imágenes de tomografía de coherencia óptica-óptica adaptativa mostraron cambios sutiles dentro de la retina a nivel celular en algunos de los ojos tratados consistentes con la localización intrarretiniana y la integración de las células inyectadas (Park et al., 2015).

- Trabajo futuro.

El Instituto Nacional del Ojo patrocinará un estudio de control simulado doble ciego prospectivo aleatorizado de fase I/II para estudiar más a fondo la seguridad y la eficacia potencial de la terapia con células CD34+ de médula ósea autóloga intravítrea en el tratamiento de la oclusión de la vena retiniana. Este estudio de un solo centro se llamará estudio TRUST (Tratamiento de la oclusión de la vena de la retina usando células STem). El estudio se llevará a cabo en UC Davis. El estudio se llevará a cabo bajo un nuevo IND aprobado por la FDA y con referencia cruzada al IND original para esta terapia celular. La inscripción al estudio comenzó a principios de 2019.

- Limitaciones potenciales.

Los peligros potenciales de esta terapia con células CD34+ autólogas son los factores del huésped que pueden afectar el potencial regenerativo de las células (Park et al., 2017). Se ha demostrado que enfermedades crónicas como la diabetes mellitus y los factores de riesgo cardiovascular afectan la calidad y cantidad de estas células movilizadas hacia la circulación sistémica (Vrtovec et al., 2016).

Otra posible limitación de la terapia con células CD34+ autólogas es que las células CD34+ representan una mezcla de subclases de células (Park, 2016). Se están realizando investigaciones para caracterizar mejor estas subclases.

4.3. TENDENCIAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO BASADO EN CÉLULAS MADRE

4.3.1. TRASPLANTE DE FOTORRECEPTORES VS TRASPLANTE DE EPR

Como se indicó anteriormente, las terapias celulares basadas en células madre para las degeneraciones retinianas se centran principalmente en reemplazar el EPR para mantener una función normal o en reemplazar las RPC para regenerar los elementos retinianos perdidos, incluidos los fotorreceptores. Teniendo en cuenta el papel fundamental que desempeña el EPR en el mantenimiento de la salud y la función de las células fotorreceptoras (Bhutto y Luty, 2012; Handa et al., 2017) es concebible que reemplazar solo los fotorreceptores afectados no conduzca a un efecto positivo a largo plazo, ya que los fotorreceptores regenerados aún carecerían del respaldo de un EPR saludable. Por otro lado, reemplazar solo el EPR enfermo puede no ser suficiente para rescatar por completo los fotorreceptores restantes pero ya comprometidos en la retina del huésped. Esto plantea la posibilidad de la necesidad de trasplantar tanto fotorreceptores como EPR, ya sea de forma simultánea o secuencial, para restaurar eficientemente la visión en estos pacientes (Singh et al., 2020).

4.3.2. TRASPLANTE DE SUSPENSIONES CELULARES FRENTE A TRASPLANTE DE ORGANOIDES

En la mayoría de los casos, los estudios preclínicos hasta la fecha han utilizado una suspensión de células fotorreceptoras disociadas. Aunque estos estudios han mostrado algunos resultados prometedores, como se describió anteriormente, las células trasplantadas generalmente no lograron sobrevivir o integrarse funcionalmente en el grado necesario para lograr una restauración significativa de la función visual (Canto-Soler et al., 2016; Zarbin, 2016). Con el advenimiento de la tecnología retinal tridimensional derivada de células madre, surge la oportunidad de abordar la viabilidad del trasplante de fotorreceptores como un tejido preorganizado en lugar de células individuales aisladas (organoides). Los organoides son estructuras celulares miniaturizadas derivadas de células madre diferenciadas y autoorganizadas tridimensionalmente (3D) *in vitro* que muestran arquitectura física y funcionalidad orgánica similares a las de los órganos-tejidos.

Una expectativa razonable es que este enfoque podría proporcionar a los fotorreceptores trasplantados un microambiente físico y fisiológico mejorado que, a su vez, tendría un impacto positivo en su capacidad para sobrevivir e integrarse funcionalmente. Sin embargo, esta área de investigación aún está en sus inicios, y son pocos los estudios publicados hasta la fecha (Singh et al., 2020).

4.3.3. TERAPIA GÉNICA COMBINADA CON CÉLULAS MADRE

La terapia génica es otra modalidad de tratamiento en la que las células madre probablemente desempeñarán un papel importante en un futuro próximo. La implantación de células madre,

combinada con terapia génica, se ha realizado en el tratamiento de trastornos genéticos no oculares durante años (Hanna et al., 2007; Rideout et al., 2002; Sergijenko et al., 2013). Las hESC pueden manipularse genéticamente para introducir un gen terapéutico, ya sea activo o en espera de una activación posterior una vez que la hESC modificada se haya diferenciado en el tipo de célula deseado. Las iPSC generadas a partir de las propias células de un paciente tras la utilización de técnicas de edición genética pueden reemplazar un gen de enfermedad defectuoso con una copia normal y saludable. Luego, las células madre reparadas podrían dirigirse para formar el tipo de tejido necesario, administrarse en el ojo y usarse para reconstituir el tejido enfermo (Simara et al., 2013).

Esta evidencia muestra que las células madre tienen un gran potencial para su uso exitoso en terapias génicas en la clínica (Lipinski et al., 2013). Sin embargo, DMAE está asociada con múltiples factores de riesgo genéticos y, por lo tanto, dado que las células iPSC portarían también la alteración, la manipulación genética de iPSC-EPR podría ser un enfoque práctico para tal enfermedad.

5. CONCLUSIÓN

La DMAE y otras enfermedades degenerativas maculares son las principales causas de ceguera retiniana con limitadas opciones terapéuticas disponibles actualmente. El mayor defecto en estas enfermedades se debe a la disfunción de las células del EPR, por ello la restauración de una capa sana del EPR mediante la implantación de células del EPR derivadas de células madre ha creado esperanzas para el tratamiento de la ceguera en millones de pacientes.

La terapia con células madre para preservar o restaurar la visión en enfermedades degenerativas de la retina está tomando auge en la época actual. En el momento actual el trasplante de células madre en la retina se encuentra en la fase de ensayos clínicos en humanos bien registrados realizados con la supervisión de la FDA. Publicaciones recientes sobre ensayos clínicos con sujetos humanos mostraron buenos resultados de seguridad y proporcionaron motivos para respaldar más pruebas de trasplante. El desarrollo de tratamientos para estas patologías es alentador debido al aumento de las oportunidades de financiación.

Aunque en la última década ha visto un desarrollo en la aparición de nuevas terapias celulares y moleculares para las enfermedades retinianas, muchas aún se encuentran en las primeras etapas de desarrollo y se necesitan más estudios para abordar estas estrategias para su aplicación clínica. En el futuro, deberían estar disponibles nuevas estrategias terapéuticas para la degeneración retiniana que utilicen la terapia celular junto con otros tipos de estrategias como la farmacología y la terapia génica.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad I, Tang L, Pham H. Identification of Neural Progenitors in the Adult Mammalian Eye. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 270:517–21.
- Alexander P, Thomson HAJ, Luff AJ, Lotery AJ. Retinal pigment epithelium transplantation: concepts, challenges, and future prospects. *Eye.* 2015; 29:992–1002.
- Allikmets R, Singh N, Sun H, Shroyer NF, Hutchinson A, Chidambaram A, et al. A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Starqardt macular dystrophy. *Nature Genetics.* 1997; 15:236–46.
- Alm A, Nilsson SFE. Uveoscleral outflow--a review. *Exp Eye Res.* 2009; 88:760–8.
- Alsaeedi HA, Lam C, Koh AEH, Teh SW, Mok PL, Higuchi A, et al. Looking into dental pulp stem cells in the therapy of photoreceptors and retinal degenerative disorders. *J Photochem Photobiol B.* 2020;203.
- Ammar MJ, Hsu J, Chiang A, Ho AC, Regillo CD. Age-related macular degeneration therapy: A review. *Curr Opin Ophthalmol.* 2020; 31:215–21.
- Arnhold S, Absenger Y, Klein H, Addicks K, Schraermeyer U. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells rescue photoreceptor cells in the dystrophic retina of the rhodopsin knockout mouse. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology.* 2007; 245:414–22.
- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van Der Zee R, Li T, et al. Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science (1979).* 1997; 275:964–7.
- Au A, Parikh VS, Singh RP, Ehlers JP, Yuan A, Rachitskaya A V., et al. Comparison of anti-VEGF therapies on fibrovascular pigment epithelial detachments in age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101:970–5.
- Ba J, Peng RS, Xu D, Li YH, Shi H, Wang Q, et al. Intravitreal anti-VEGF injections for treating wet age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* 2015; 9:5397–405.
- Bahrami H. Causal inference in primary open angle glaucoma: specific discussion on intraocular pressure. *Ophthalmic Epidemiol.* 2006; 13:283–9.
- Baranov PY, Tucker BA, Young MJ. Low-Oxygen Culture Conditions Extend the Multipotent Properties of Human Retinal Progenitor Cells. *Tissue Eng Part A.* 2014; 20:1465.
- Barnea-Cramer AO, Wang W, Lu SJ, Singh MS, Luo C, Huo H, et al. Function of human pluripotent stem cell-derived photoreceptor progenitors in blind mice. *Scientific Reports.* 2016; 6:1–15.
- Bharti K, Rao M, Hull SC, Stroncek D, Brooks BP, Feigal E, et al. Developing Cellular Therapies for Retinal Degenerative Diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014; 55:1191–202.
- Bhutto I, Luttu G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): Relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol Aspects Med.* 2012; 33:295–317.
- Binder S, Stanzel B V., Krebs I, Glittenberg C. Transplantation of the RPE in AMD. *Prog Retin Eye Res.* 2007; 26:516–54.
- Blair JR, Turner JE. Optimum conditions for successful transplantation of immature rat retina to the lesioned adult retina. *Developmental Brain Research.* 1987; 36:257–70.

- Brena I. Conflictos ideológicos en torno a la reglamentación de la investigación con células troncales embrionarias. *Gac Med Mex.* 2015; 151:273–7.
- Byrne JA, Simonsson S, Western PS, Gurdon JB. Nuclei of Adult Mammalian Somatic Cells Are Directly Reprogrammed to oct-4 Stem Cell Gene Expression by Amphibian Oocytes. *Current Biology.* 2003; 13:1206–13.
- Canto-Soler V, Flores-Bellver M, Vergara MN. Stem Cell Sources and Their Potential for the Treatment of Retinal Degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57:1–9.
- Carr AJ, Vugler A, Lawrence J, Chen LL, Ahmado A, Chen FK, et al. Molecular characterization and functional analysis of phagocytosis by human embryonic stem cell-derived RPE cells using a novel human retinal assay. *Mol Vis.* 2009; 15:283.
- Çerman E, Akkoç Tolga, Eraslan M, Şahin Ö, Özkara S, Aker FV, et al. Retinal Electrophysiological Effects of Intravitreal Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *PLoS One.* 2016;11: e0156495.
- Cerro M Del, Ison JR, Bowen GP, Lazar E, Cerro C Del. Intraretinal grafting restores visual function in light-blinded rats. *Neuroreport.* 1991; 2:529–32.
- del Cerro M, Notter MF, Grover DA, Gash DM, Jiang LQ, del Cerro C. Chapter 16 Retinal transplants into adult eyes affected by phototoxic retinopathy. *Prog Brain Res.* 1988; 78:125–30.
- Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, Piau E, Evans C, Zlateva G, et al. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: A systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.* 2010;10.
- Chen J, Runyan SA, Robinson MR. Novel ocular antihypertensive compounds in clinical trials. *Clin Ophthalmol.* 2011; 5:667–77.
- Cheng JW, Cheng SW, Ma XY, Cai JP, Li Y, Lu GC, et al. Myocilin polymorphisms and primary open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7.
- Cholkar K, Trinh HM, Pal D, Mitra AK. Discovery of novel inhibitors for the treatment of glaucoma. *Expert Opin Drug Discov.* 2015; 10:293.
- Coleman AL, Miglior S. Risk factors for glaucoma onset and progression. *Surv Ophthalmol.* 2008;53 Suppl1.
- Condic ML. Totipotency: What it is and what it is not. *Stem Cells Dev.* 2014; 23:796–812.
- De Coppi P, Bartsch G, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nature Biotechnology.* 2007; 25:100–6.
- Da Cruz L, Fynes K, Georgiadis O, Kerby J, Luo YH, Ahmado A, et al. Phase 1 clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration. *Nature Biotechnology.* 2018;36:328–37.
- Daley GQ, Hyun I, Apperley JF, Barker RA, Benvenisty N, Bredenoord AL, et al. Setting Global Standards for Stem Cell Research and Clinical Translation: The 2016 ISSCR Guidelines. *Stem Cell Reports.* 2016; 6:787–97.
- Das T, Del Cerro M, Jalali S, Rao VS, Gullapalli VK, Little C, et al. The Transplantation of Human Fetal Neuroretinal Cells in Advanced Retinitis Pigmentosa Patients: Results of a Long-Term Safety Study. *Exp Neurol.* 1999; 157:58–68.
- Decembrini S, Koch U, Radtke F, Moulin A, Arsenijevic Y. Derivation of Traceable and Transplantable Photoreceptors from Mouse Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Reports.* 2014; 2:853–65.

- Dennis JE, Carbillet JP, Caplan AI, Charbord P. The STRO-1+ marrow cell population is multipotential. *Cells Tissues Organs*. 2002; 170:73–82.
- Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, da Silva Cunha A, Woo SJ, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives. *Prog Retin Eye Res*. 2018; 63:107–31.
- Ding D-C, Shyu W-C, Lin S-Z, Li H. Current Concepts in Adult Stem Cell Therapy for Stroke. *Curr Med Chem*. 2006; 13:3565–74.
- Duan P, Xu H, Zeng Y, Wang Y, Yin ZQ. Human Bone Marrow Stromal Cells can Differentiate to a Retinal Pigment Epithelial Phenotype when Co-Cultured with Pig Retinal Pigment Epithelium using a Transwell System. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2013; 31:601–13.
- Eaves CJ. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood*. 2015; 125:2605–13.
- Edwards RG. From embryonic stem cells to blastema and MRL mice. *Reprod Biomed Online*. 2008; 16:425–61.
- Enfermedades Hereditarias de Retina: qué es, síntomas y tratamiento | Top Doctors. n.d. <https://www.topdoctors.com.co/diccionario-medico/enfermedades-hereditarias-de-retina/>
- Enzmann V, Yolcu E, Kaplan HJ, Ildstad ST. Stem Cells as Tools in Regenerative Therapy for Retinal Degeneration. *Archives of Ophthalmology*. 2009; 127:563–71.
- Farrar GJ, Kenna PF, Humphries P. On the genetics of retinitis pigmentosa and on mutation-independent approaches to therapeutic intervention. *EMBO Journal*. 2002; 21:857–64.
- Fautsch MP, Johnson DH, Acott TS, Aihara M, Bhattacharya SK, Borrás T, et al. Aqueous humor outflow: what do we know? Where will it lead us? *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47:4181–7.
- Ferris FL, Fine SL, Hyman L. Age-Related Macular Degeneration and Blindness Due to Neovascular Maculopathy. *Archives of Ophthalmology*. 1984; 102:1640–2.
- Fujinami K, Lois N, Davidson AE, Mackay DS, Hogg CR, Stone EM, et al. A Longitudinal Study of Stargardt Disease: Clinical and Electrophysiologic Assessment, Progression, and Genotype Correlations. *Am J Ophthalmol*. 2013; 155:1075-1088.e13.
- Fung THM, Patel B, Wilmot EG, Amoaku WMK. Diabetic retinopathy for the non-ophthalmologist. *Clinical Medicine*. 2022; 22:112.
- García de Insausti CL. Aislamiento y caracterización de las células madre de la membrana amniótica: una nueva fuente para terapia celular e inmuno-modulación. Proyecto de Investigación: 2012.
- Gonzalez VH, Campbell J, Holekamp NM, Kiss S, Loewenstein A, Augustin AJ, et al. Early and Long-Term Responses to Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Diabetic Macular Edema: Analysis of Protocol I Data. *Am J Ophthalmol*. 2016; 172:72–9.
- Goodell MA, Nguyen H, Shroyer N. Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2015; 16:299–309.
- Gouras P, Du J, Gelanze M, Lopez R, Kwun R, Kjeldbye H, et al. Survival and Synapse Formation of Transplanted Rat Rods. *J Neural Transplant Plast*. 1991; 2:91–100.
- Gupta MP, Herzlich AA, Sauer T, Chan CC. Retinal anatomy and pathology. *Dev Ophthalmol* 2015;55:7–17.

- Handa JT, Cano M, Wang L, Datta S, Liu T. Lipids, oxidized lipids, oxidation-specific epitopes, and Age-related Macular Degeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2017; 1862:430–40.
- Hanley JA, Lippman Hand A. If Nothing Goes Wrong, Is Everything All Right?: Interpreting Zero Numerators. *JAMA*. 1983; 249:1743–5.
- Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Cassady JP, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science (1979)*. 2007; 318:1920–3.
- Hanus J, Zhao F, Wang S. Current therapeutic developments in atrophic age-related macular degeneration. *British Journal of Ophthalmology*. 2016; 100:122–7.
- Haruta M, Sasai Y, Kawasaki H, Amemiya K, Ooto S, Kitada M, et al. In Vitro and In Vivo Characterization of Pigment Epithelial Cells Differentiated from Primate Embryonic Stem Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:1020–5.
- Hendrickson A, Bumsted-O'Brien K, Natoli R, Ramamurthy V, Possin D, Provis J. Rod photoreceptor differentiation in fetal and infant human retina. *Exp Eye Res*. 2008; 87:415–26.
- Homma K, Okamoto S, Mandai M, Gotoh N, Rajasimha HK, Chang YS, et al. Developing Rods Transplanted into the Degenerating Retina of Crx-Knockout Mice Exhibit Neural Activity Similar to Native Photoreceptors. *Stem Cells*. 2013; 31:1149–59.
- Humayun MS, De Juan E. J, Del Cerro M, Dagnelie G, Radner W, Sadda SR, et al. Human neural retinal transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41:3100–6.
- Jayakody SA, Gonzalez-Cordero A, Ali RR, Pearson RA. Cellular strategies for retinal repair by photoreceptor replacement. *Prog Retin Eye Res*. 2015; 46:31–66.
- Kalloniatis M, Fletcher EL. Retinitis pigmentosa: Understanding the clinical presentation, mechanisms and treatment options. *Clin Exp Optom*. 2004; 87:65–80.
- Kashani AH, Lebkowski JS, Rahhal FM, Avery RL, Salehi-Had H, Chen S, et al. One-Year Follow-Up in a Phase 1/2a Clinical Trial of an Allogeneic RPE Cell Bioengineered Implant for Advanced Dry Age-Related Macular Degeneration. *Transl Vis Sci Technol*. 2021;10.
- Kashani AH, Lebkowski JS, Rahhal FM, Avery RL, Salehi-Had H, Dang W, et al. A bioengineered retinal pigment epithelial monolayer for advanced, dry age-related macular degeneration. *Sci Transl Med*. 2018;10.
- Kawasaki H, Suemori H, Mizuseki K, Watanabe K, Urano F, Ichinose H, et al. Generation of dopaminergic neurons and pigmented epithelia from primate ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002; 99:1580–5.
- Klassen H. Stem cells in clinical trials for treatment of retinal degeneration. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;16:7–14.
- Klassen HJ, Ng TF, Kurimoto Y, Kirov I, Shatos M, Coffey P, et al. Multipotent Retinal Progenitors Express Developmental Markers, Differentiate into Retinal Neurons, and Preserve Light-Mediated Behavior. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:4167–73.
- Klein R, Klein BEK, Knudtson MD, Meuer SM, Swift M, Gangnon RE. Fifteen-Year Cumulative Incidence of Age-Related Macular Degeneration. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 2007; 114:253–62.
- Klimanskaya I, Hipp J, Rezai KA, West M, Atala A, Lanza R. Derivation and Comparative Assessment of Retinal Pigment Epithelium from Human Embryonic Stem Cells Using Transcriptomics. *Clon Células madre*. 2004; 6:217–45.

- Koenekoop RK, Loyer M, Hand CK, Al Mahdi H, Dembinska O, Beneish R, et al. Novel RPGR mutations with distinct retinitis pigmentosa phenotypes in French-Canadian families. *Am J Ophthalmol*. 2003; 136:678–87.
- Kolios G, Moodley Y. Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine. *Respiration*. 2013; 85:3–10.
- Kumar S, Mahajan B, Mittal J. Bardet-Biedl syndrome: A rare case report from North India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2012; 78:228.
- Kuppermann BD, Boyer DS, Mills B, Yang J, Klassen HJ. Safety and Activity of a Single, Intravitreal Injection of Human Retinal Progenitor Cells (jCell) for Treatment of Retinitis Pigmentosa (RP). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59:2987–2987.
- Levin LA, Miller JW, Zack DJ, Friedlander M, Smith LEH. Special Commentary: Early Clinical Development of Cell Replacement Therapy: Considerations for the National Eye Institute Audacious Goals Initiative. *Ophthalmology*. 2017; 124:926–34.
- Liao JL, Yu J, Huang K, Hu J, Diemer T, Ma Z, et al. Molecular signature of primary retinal pigment epithelium and stem-cell-derived RPE cells. *Hum Mol Genet*. 2010; 19:4229–38.
- Lipinski DM, Thake M, MacLaren RE. Clinical applications of retinal gene therapy. *Prog Retin Eye Res*. 2013; 32:22–47.
- Lister R, Pelizzola M, Kida YS, Hawkins RD, Nery JR, Hon G, et al. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011; 471:68–73.
- Liu S, Zhou J, Zhang X, Liu Y, Chen J, Hu B, et al. Strategies to Optimize Adult Stem Cell Therapy for Tissue Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016; 17:982.
- Liu Z, Parikh BH, Tan QSW, Wong DSL, Ong KH, Yu W, et al. Surgical Transplantation of Human RPE Stem Cell-Derived RPE Monolayers into Non-Human Primates with Immunosuppression. *Stem Cell Reports*. 2021; 16:237–51.
- Lu B, Malcuit C, Wang S, Girman S, Francis P, Lemieux L, et al. Long-Term Safety and Function of RPE from Human Embryonic Stem Cells in Preclinical Models of Macular Degeneration. *Stem Cells*. 2009; 27:2126–35.
- Lund RD, Wang S, Klimanskaya I, Holmes T, Ramos-Kelsey R, Lu B, et al. Human Embryonic Stem Cell-Derived Cells Rescue Visual Function in Dystrophic RCS Rats. *Clonación de células madre*. 2006;8:189–99.
- Luo J, Baranov P, Patel Sherrina, Ouyang H, Quach J, Wu F, et al. Human retinal progenitor cell transplantation preserves vision. *Journal of Biological Chemistry*. 2014; 289:6362–71.
- Luo Z, Chang KC, Wu S, Sun C, Xia X, Nahmou M, et al. Directly induced human retinal ganglion cells mimic fetal RGCs and are neuroprotective after transplantation in vivo. *Stem Cell Reports*. 2022; 17:2690–703.
- MacLaren RE, Bennett J, Schwartz SD. Gene Therapy and Stem Cell Transplantation in Retinal Disease: The New Frontier. *Ophthalmology*. 2016;123: S98–106.
- MacLaren RE, Pearson RA. Stem cell therapy and the retina. *Eye*. 2007; 21:1352–9.
- Maeda T, Mandai M, Sugita S, Kime C, Takahashi M. Strategies of pluripotent stem cell-based therapy for retinal degeneration: update and challenges. *Trends Mol Med*. 2022; 28:388–404.
- Maguire G. Therapeutics from Adult Stem Cells and the Hype Curve. *ACS Med Chem Lett*. 2016; 7:441–3.

- Maherali N, Sridharan R, Xie W, Utikal J, Eminli S, Arnold K, et al. Directly Reprogrammed Fibroblasts Show Global Epigenetic Remodeling and Widespread Tissue Contribution. *Cell Stem Cell*. 2007; 1:55–70.
- Mandai M, Fujii M, Hashiguchi T, Sunagawa GA, Ito S, Sun J, et al. iPSC-Derived Retina Transplants Improve Vision in rd1 End-Stage Retinal-Degeneration Mice. *Stem Cell Reports*. 2017a; 8:69–83.
- Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, Hirami Y, Morinaga C, Daimon T, et al. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *New England Journal of Medicine*. 2017b; 376:1038–46.
- Marañés Gálvez C. Potencialidad queratinocítica de las células madre de la gelatina de Wharton para su utilización en ingeniería tisular. 2010.
- Marc RE, Jones BW. Retinal Remodeling in Inherited Photoreceptor Degenerations. *Mol Neurobiol*. 2003; 28:139–47.
- Michaelides M, Chen LL, Brantley MA, Andorf JL, Isaak EM, Jenkins SA, et al. ABCA4 mutations and discordant ABCA4 alleles in patients and siblings with bull's-eye maculopathy. *British Journal of Ophthalmology*. 2007; 91:1650–5.
- Michaelides M, Hunt DM, Moore AT. The genetics of inherited macular dystrophies. *J Med Genet*. 2003; 40:641–50.
- Motwani B, Singh M, Kaur G, Singh S, Gangde P. Stem cells: A new paradigm in dentistry. 2016.
- Nazari H, Zhang L, Zhu D, Chader GJ, Falabella P, Stefanini F, et al. Stem cell based therapies for age-related macular degeneration: The promises and the challenges. *Prog Retin Eye Res*. 2015; 48:1–39.
- Notter MFD, Del Cerro C, Wiegand SJ, Grover DA, Lazar E, Del Cerro M. Intraretinal Transplantation for Rod-Cell Replacement in Light-Damaged Retinas. *Neural Plast*. 1989; 1:1–10.
- Ohi Y, Qin H, Hong C, Blouin L, Polo JM, Guo T, et al. Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPS cells. *Nature Cell Biology*. 2011;13:541–9.
- Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007; 448:313–7.
- O'Neill HC, Limnios IJ, Barnett NL. Advancing a Stem Cell Therapy for Age-Related Macular Degeneration. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2019; 15:89–97.
- Ooto S, Akagi T, Kageyama R, Akita J, Mandai M, Honda Y, et al. Potential for neural regeneration after neurotoxic injury in the adult mammalian retina. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:13654.
- Ortin-Martinez A, Tsai ELS, Nickerson PE, Bergeret M, Lu Y, Smiley S, et al. A Reinterpretation of Cell Transplantation: GFP Transfer From Donor to Host Photoreceptors. *Stem Cells*. 2017; 35:932–9.
- Park DH, Sun HJ, Lee SJ. A comparison of responses to intravitreal bevacizumab, ranibizumab, or aflibercept injections for neovascular age-related macular degeneration. *Int Ophthalmol*. 2017; 37:1205–14.
- Park SS. Cell Therapy Applications for Retinal Vascular Diseases: Diabetic Retinopathy and Retinal Vein Occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57: ORSFj1–10.

- Park SS, Bauer G, Abedi M, Pontow S, Panorgias A, Jonnal R, et al. Intravitreal Autologous Bone Marrow CD34+ Cell Therapy for Ischemic and Degenerative Retinal Disorders: Preliminary Phase 1 Clinical Trial Findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015; 56:81–9.
- Park SS, Caballero S, Bauer G, Shibata B, Roth A, Fitzgerald PG, et al. Long-Term Effects of Intravitreal Injection of GMP-Grade Bone-Marrow-Derived CD34+ Cells in NOD-SCID Mice with Acute Ischemia-Reperfusion Injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:986–94.
- Park SS, Moisseiev E, Bauer G, Anderson JD, Grant MB, Zam A, et al. Advances in bone marrow stem cell therapy for retinal dysfunction. *Prog Retin Eye Res.* 2017; 56:148–65.
- Pearson RA, Gonzalez-Cordero A, West EL, Ribeiro JR, Aghaizu N, Goh D, et al. Donor and host photoreceptors engage in material transfer following transplantation of post-mitotic photoreceptor precursors. *Nature Communications.* 2016; 7:1–15.
- Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatol Reprod Hum.* 2017; 31:28–33.
- Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B, Chaves-Moreno LC. Stem Cell Morphophysiology and Umbilical Cord Blood Diagnosis in Bovines During Gestation. Florencia Caquetá, Colombia. *Revista Científica.* 2016; XXVI:129–35.
- Presland A, Price J. Ocular anatomy and physiology relevant to anaesthesia. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine.* 2014; 15:20–5.
- Radtke ND, Aramant RB, Petry HM, Green PT, Pidwell DJ, Seiler MJ. Vision Improvement in Retinal Degeneration Patients by Implantation of Retina Together with Retinal Pigment Epithelium. *Am J Ophthalmol.* 2008;146.
- Reichenbach A, Bringmann A. New functions of Müller cells. *Glia.* 2013; 61:651–78.
- Rideout WM, Hochedlinger K, Kyba M, Daley GQ, Jaenisch R. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell.* 2002; 109:17–27.
- Romero-Aroca P, Baget-Bernaldiz M, Pareja-Rios A, Lopez-Galvez M, Navarro-Gil R, Verges R. Diabetic Macular Edema Pathophysiology: Vasogenic versus Inflammatory. *J Diabetes Res.* 2016.
- Santos-Ferreira T, Llonch S, Borsch O, Postel K, Haas J, Ader M. Retinal transplantation of photoreceptors results in donor-host cytoplasmic exchange. *Nat Commun.* 2016;7.
- Schémann JF, Leplège A, Keita T, Resnikoff S. From visual function deficiency to handicap: Measuring visual handicap in Mali. *Ophthalmic Epidemiol.* 2002; 9:133–48.
- Schmitt S, Aftab U, Jiang C, Redenti S, Klassen H, Miljan E, et al. Molecular Characterization of Human Retinal Progenitor Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50:5901–8.
- Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, Franco-Cardenas V, Pan CK, Ostrick RM, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *The Lancet.* 2012; 379:713–20.
- Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *The Lancet.* 2015; 385:509–16.
- Schwartz SD, Tan G, Hosseini H, Nagiel A. Subretinal Transplantation of Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium for the Treatment of Macular Degeneration: An Assessment at 4 Years. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57: ORSFC1–9.

- Sears AE, Bernstein PS, Cideciyan A V., Hoyng C, Charbel Issa P, Palczewski K, et al. Towards Treatment of Stargardt Disease: Workshop Organized and Sponsored by the Foundation Fighting Blindness. *Transl Vis Sci Technol.* 2017; 6:6–6.
- Seiler MJ, Aramant RB. Cell replacement and visual restoration by retinal sheet transplants. *Prog Retin Eye Res.* 2012; 31:661–87.
- Sergijenko A, Langford-Smith A, Liao AY, Pickford CE, McDermott J, Nowinski G, et al. Myeloid/Microglial Driven Autologous Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Corrects a Neuronopathic Lysosomal Disease. *Molecular Therapy.* 2013; 21:1938–49.
- Simara P, Motl JA, Kaufman DS. Pluripotent stem cells and gene therapy. *Translational Research.* 2013; 161:284–92.
- Singh MS, Aslam SA, Duncan IL, Cramer AO, Barnard AR, MacLaren RE. Cell fusion following photoreceptor transplantation into the non-degenerate retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014; 55:3989–3989.
- Singh MS, Balmer J, Barnard AR, Aslam SA, Moralli D, Green CM, et al. Transplanted photoreceptor precursors transfer proteins to host photoreceptors by a mechanism of cytoplasmic fusion. *Nature Communications.* 2016; 7:1–5.
- Singh MS, Park SS, Albin TA, Canto-Soler MV, Klassen H, MacLaren RE, et al. Retinal stem cell transplantation: Balancing safety and potential. *Prog Retin Eye Res.* 2020;75.
- Singh R, Phillips MJ, Kuai D, Meyer J, Martin JM, Smith MA, et al. Functional Analysis of Serially Expanded Human iPS Cell-Derived RPE Cultures. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013; 54:6767–78.
- Stahl A. The Diagnosis and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. *Dtsch Arztebl Int.* 2020; 117:513.
- Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev.* 2005; 85:845–81.
- Strauss RW, Ho A, Muñoz B, Cideciyan A V., Sahel JA, Sunness JS, et al. The Natural History of the Progression of Atrophy Secondary to Stargardt Disease (ProgStar) Studies: Design and Baseline Characteristics: ProgStar Report No. 1. *Ophthalmology.* 2016; 123:817–28.
- Sunness JS. Stem cells in age-related macular degeneration and Stargardt’s macular dystrophy. *The Lancet.* 2015; 386:29.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell.* 2007; 131:861–72.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell.* 2006; 126:663–76.
- Tatham AJ, Weinreb RN, Medeiros FA. Strategies for improving early detection of glaucoma: the combined structure-function index. *Clin Ophthalmol.* 2014; 8:611–21.
- Thomas CJ, Mirza RG, Gill MK. Age-Related Macular Degeneration. *Medical Clinics of North America.* 2021; 105:473–91.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science (1979).* 1998; 282:1145–7.
- Tomita M, Lavik E, Klassen H, Zahir T, Langer R, Young MJ. Biodegradable Polymer Composite Grafts Promote the Survival and Differentiation of Retinal Progenitor Cells. *Stem Cells.* 2005; 23:1579–88.

- Tropepe V, Coles BLK, Chiasson BJ, Horsford DJ, Elia AJ, McInnes RR, et al. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science* (1979). 2000; 287:2032–6.
- Tucker BA, Redenti SM, Jiang C, Swift JS, Klassen HJ, Smith ME, et al. The use of progenitor cell/biodegradable MMP2–PLGA polymer constructs to enhance cellular integration and retinal repopulation. *Biomaterials*. 2010; 31:9–19.
- Turner DL, Cepko CL. A common progenitor for neurons and glia persists in rat retina late in development. *Nature*. 1988; 328:131–6.
- Turner JE, Blair JR. Newborn rat retinal cells transplanted into a retinal lesion site in adult host eyes. *Developmental Brain Research*. 1986; 26:91–104.
- Tzameret A, Sher I, Belkin M, Treves AJ, Meir A, Nagler A, et al. Transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cells as a thin subretinal layer ameliorates retinal degeneration in a rat model of retinal dystrophy. *Exp Eye Res*. 2014; 118:135–44.
- Vadlapudi AD, Patel A, Cholkar K, Mitra AK. Recent Patents on Emerging Therapeutics for the Treatment of Glaucoma, Age Related Macular Degeneration and Uveitis. *Recent Pat Biomed Eng*. 2012; 5:83–101.
- Visor de libros. n.d. https://www.educa2.madrid.org/web/argos/la-maquina-del-tiempo/-/book/atlas-de-histologia10?_book_viewer_WAR cms_tools_chapterIndex=af634dca-3bda-4161-8586-81cf67136d5d.
- Vrathasha V, Nikonov S, Bell BA, He J, Bungatavula Y, Uyhazi KE, et al. Transplanted human induced pluripotent stem cells- derived retinal ganglion cells embed within mouse retinas and are electrophysiologically functional. *IScience*. 2022; 25:105308.
- Vrtovec B, Sever M, Jensterle M, Poglajen G, Janez A, Kravos N, et al. Efficacy of CD34+ Stem Cell Therapy in Nonischemic Dilated Cardiomyopathy Is Absent in Patients With Diabetes but Preserved in Patients With Insulin Resistance. *Stem Cells Transl Med*. 2016; 5:632–8.
- Vugler A, Carr AJ, Lawrence J, Chen LL, Burrell K, Wright A, et al. Elucidating the phenomenon of HESC-derived RPE: Anatomy of cell genesis, expansion and retinal transplantation. *Exp* . 2008; 214:347–61.
- Vugler A, Lawrence J, Walsh J, Carr A, Gias C, Semo M, et al. Embryonic stem cells and retinal repair. *Mech Dev*. 2007; 124:807–29.
- Waldron P V., Di Marco F, Kruczek K, Ribeiro J, Graca AB, Hippert C, et al. Transplanted Donor- or Stem Cell-Derived Cone Photoreceptors Can Both Integrate and Undergo Material Transfer in an Environment-Dependent Manner. *Stem Cell Reports*. 2018; 10:406–21.
- Wernig M, Meissner A, Foreman R, Brambrink T, Ku M, Hochedlinger K, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*. 2007;448:318–24.
- Wong WL, Su X, Li X, Cheung CMG, Klein R, Cheng CY, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2: e106–16.
- Yao J, Ko CW, Baranov PY, Regatieri C V., Redenti S, Tucker BA, et al. Enhanced Differentiation and Delivery of Mouse Retinal Progenitor Cells Using a Micropatterned Biodegradable Thin-Film Polycaprolactone Scaffold. *Tissue Eng., Part A*. 2015;21:1247–60.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* (1979). 2007; 318:1917–20.
- Zarbin M. Cell-Based Therapy for Degenerative Retinal Disease. *Trends Mol Med*. 2016; 22:115–34.

Zhong X, Gutierrez C, Xue T, Hampton C, Vergara MN, Cao LH, et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs. *Nature Communications*. 2014; 5:1–14.