

Retinosis pigmentaria. Terapia celular

M.ª Elena Rodríguez González-Herrero¹

Rosa Reigadas López¹

Johnny Di Pierdomenico³

Ana Vanesa García Navarro¹

Ana M.ª García Hernández²

Catalina García Jiménez¹

Francisca Iniesta Martínez²

Natalia García Iniesta²

Carmen Algueró Martín²

M.ª Dolores López Lucas²

Darío Sánchez Salinas²

M.ª Concepción Maestre Sardiña⁴

José M.ª Moraleda Jiménez²

José M.ª Marín Sánchez¹

M.ª Paz Villegas Pérez³

1. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), GI/IMIB/C061/2011. Servicio de Oftalmología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

2. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), GI/IMIB/C061/2011. Red de Terapia Celular (TerCel: RD12/0019/0001), Instituto de Salud Carlos III. Servicio de Hematología y Hemoterapia, Unidad de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Departamento de Medicina Interna, Universidad de Murcia, Murcia, España

3. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), GI/IMIB/C004/2011. Red de Enfermedades Oculares (OftaRed: RD12/0034/0014), Instituto de Salud Carlos III. Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Universidad de Murcia, Murcia, España

4. Servicio de Neurofisiología Clínica.
Hospital Universitario Reina Sofía

UNA NUEVA **Innovación** EN GLAUCOMA

DUOKOPT®

20 MG/ML DORZOLAMIDA + 5 MG/ML TIMOLOL · COLIRIO EN SOLUCIÓN

2 MESES DE
DORZOLAMIDA
/ TIMOLOL

con **0 %**
CONSERVANTES

EASYGRIP®

Tecnología
patentada
FÁCIL USO

Financiado por el
S.N.S.

Thea

POR UNA GENERACIÓN SIN CONSERVANTES

Retinosis pigmentaria. Terapia celular

Índice

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Retinosis pigmentaria | 4 |
| Incidencia | 4 |
| Herencia | 4 |
| Patogenia | 5 |
| Síntomas y signos | 5 |
| Tratamiento | 6 |
| Terapia celular como estrategia terapéutica | 7 |
| Investigación clínica | 8 |
| Ensayo clínico TC/RP | 8 |
| Fase de selección | 9 |
| Fase de obtención, procesamiento, intervención e inyección intravítreo de CMN de MO autólogas/inyección subconjuntival de suero fisiológico | 9 |
| Fase de seguimiento | 12 |
| Situación actual | 13 |
| Medicina traslacional. Avances en investigación básica | 15 |
| Retinosis pigmentaria. Tratamiento clínico en constante evolución | 18 |
| Bibliografía | 19 |

Retinosis pigmentaria

La retinosis pigmentaria o retinitis pigmentosa (RP) es una enfermedad de la retina externa que se engloba dentro de las distrofias coriorretinianas y que se caracteriza por la disfunción progresiva de los fotorreceptores (FR) y de células del epitelio pigmentario de la retina (EPR), lo que conduce a la desestructuración anatómica y funcional del tejido retiniano.

A lo largo de los años, han sido muchos los términos utilizados para describir la RP, como degeneración tapetoretiniana (Leber; 1916), degeneración retiniana pigmentaria primaria, retinopatía pigmentaria, distrofia de conos y bastones, etc.¹

Incidencia

La RP, por tanto, forma parte de un grupo de degeneraciones retinianas progresivas hereditarias afectando la forma no sindrómica a 1/4.000 personas de la población general²⁻⁶. En España el número de personas enfermas supera las 15.000 personas, estimándose en 500.000 las personas portadoras de los genes defectuosos y, por tanto, posibles transmisoras de esta enfermedad⁷. La RP es la más frecuente de las enfermedades hereditarias de la retina según la Sociedad Española de Retina y Vítreo⁸.

La RP puede aparecer como una entidad aislada (RP típica) o asociarse a otras patologías sistémicas. La prevalencia de RP asociada a enfermedad sistémica no está tan bien documentada. La prevalencia del síndrome de Usher (RP con sordera) varía de 1,8 a 6,2/100.000 personas⁹. Aproximadamente el 15% de todos los casos de RP asocian una pérdida auditiva parcial (síndrome de Usher tipo II), mientras que un 2-6 % cursan con sordera congénita profunda y ataxia vestibular (síndrome de Usher tipo I)¹⁰.

Herencia

La RP no es un trastorno inflamatorio de la retina en sí mismo; aunque la inflamación está implicada, esta no es una parte destacada de la fisiopatología de la enfermedad. En realidad, la RP constituye una distrofia o degeneración condicionada genéticamente⁹. La mayoría de los casos se heredan de forma autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X, aunque se han descrito casos de transmisión digénica o mitocondrial¹⁰.

Patogenia

En la RP se altera inicialmente la función de los FR y del EPR y posteriormente la función de las células de la retina interna, lo que conlleva la pérdida de su estructura normal, la invasión de la retina por células del EPR y la pérdida de células ganglionares, lo que finalmente conduce a la ceguera legal de estos pacientes¹¹⁻¹³.

Síntomas y signos

Debido a que la función de los bastones se afecta de forma primaria, el síntoma inicial más frecuente es la nictalopía (ceguera nocturna), que aparece a una media de edad de 11 años, cuando la enfermedad es autosómica recesiva, y de 24 años, cuando es dominante¹. La mayoría de las personas afectas de RP inician sus síntomas visuales al comienzo de la adolescencia, mostrando alteraciones de la visión nocturna entre el primero y segundo decenio de la vida y padeciendo ceguera legal (AV < 0,1 y/o CV < 10 °) hacia los 40-50 años¹⁴.

Sin embargo, el síntoma principal y más invalidante es una reducción concéntrica progresiva e insidiosa del campo visual (CV). Las depresiones de la sensibilidad retiniana son fáciles de documentar como reducciones de los umbrales retinianos en la perimetría estática. El escotoma en anillo crece hacia la periferia extrema, disminuyendo el CV de visión útil un 50% a lo largo de 4,5 años¹. En general, existe una fuerte tendencia a que la pérdida del CV sea simétrica en los dos ojos.

Los CV suelen corresponderse muy íntimamente con el aspecto del fondo de ojo, y la pérdida del CV es mayor cuantas más anomalías pigmentarias presente. En la RP típica, la pérdida de CV es lenta e inexorable, y cuando se aproxima a la visión en túnel que caracteriza la fase avanzada, el paciente aprecia rápidamente pequeños cambios. Clásicamente se ha afirmado que la visión central se preserva mientras se mantiene algo de campo periférico, pero se puede ver gravemente afectada desde las fases iniciales, cuando todavía se mantiene una parte significativa del CV periférico, por procesos como el edema macular quístico (EMQ), la membrana epirretiniana macular o cambios pigmentarios en mácula o fóvea, que pueden presentarse desde las fases iniciales de la enfermedad⁹.

En relación con los signos encontrados en el fondo de ojo, los hallazgos clínicos clásicos incluyen: migración intrarretiniana de pigmento con pigmentación en forma de espículas óseas, habitualmente en el ecuador de la retina, adelgazamiento arteriolar retiniano y palidez papilar. Además, la mayoría de los pacientes muestran celularidad en vítreo y desprendimiento posterior de vítreo. Suelen desarrollar catarata subcapsular posterior en la edad adulta, y aproximadamente el 10-40% presentan EMQ^{3,4}; son frecuentes los defectos refractivos asociados, como la miopía y el astigmatismo¹⁰.

El electrorretinograma (ERG) en estos pacientes se encuentra disminuido en amplitud y latencia (incluso años antes de que se detecten en el fondo de ojo las anomalías típicas) o ausente. Usualmente, la afectación es bilateral y simétrica, y proporciona una medición cuantitativa de la función retiniana restante en los pacientes con RP¹⁰⁻¹⁵.

Tratamiento

No existen tratamientos efectivos para el manejo de la RP, puesto que ningún tratamiento ha conseguido modificar de forma definitiva el proceso fisiopatológico primario de degeneración retiniana¹⁴.

Han sido y están siendo estudiadas y aplicadas diversas estrategias terapéuticas con el fin de enlentecer el proceso degenerativo en RP, como son: suplementos alimenticios, vitamínicos y minerales, vasodilatadores, tratamiento con extractos placentarios, cortisona, simpatectomía cervical, inyecciones de hidrolizado de ARN de levadura, ultrasonidos, dimetilsulfóxido (DMSO), ozono, inyecciones subretinianas de células retinianas fetales, lentes con filtro para rayos ultravioleta 527, liberación intraocular de factores de crecimiento, terapia génica, dispositivos electrónicos, trasplante de retina, terapia con células madre (CM), etc.^{8,10,14-19}

Actualmente la investigación para el tratamiento de RP se fundamenta principalmente en tres pilares: el tratamiento con dispositivos electrónicos, tratamientos genéticos y empleo de células madre.

En el caso del EMQ, importante causa de disminución de visión central en la RP, aunque no se ha aclarado su origen exacto, el mecanismo que se ha sugerido es la rotura de la barrera hematorretiniana asociada a una inflamación crónica de bajo grado y una disminución en la eficacia de la bomba del EPR¹⁹⁻²⁴. Además, se ha correlacionado la presencia de anticuerpos antirretinianos con la existencia de un EMQ²⁵. Se han propuesto múltiples tratamientos que tratan de resolver esta condición actuando sobre los distintos aspectos fisiopatológicos: el tratamiento clásico con inhibidores de la anhidrasa carbónica para mejorar la función de bomba del EP²⁶⁻²⁷; antiangiogénicos, como el bevacizumab⁹, y, recientemente, el tratamiento intravítreo con dexametasona, que mostró una eficacia limitada en el tiempo y con mal resultado funcional, a pesar de la resolución del edema por alteraciones crónicas de la estructura retiniana con áreas de atrofia foveal²⁸⁻²⁹.

Terapia celular como estrategia terapéutica

Dado que hasta la fecha no existe un tratamiento efectivo para la RP, existen múltiples líneas de investigación para intentar paliar el avance de la degeneración retiniana.

Actualmente están en marcha numerosos estudios y ensayos clínicos a escala mundial que analizan diferentes estrategias terapéuticas para frenar el desarrollo de la enfermedad.

Las células madre (CM), también denominadas células troncales, células progenitoras o células stem, se caracterizan por tener la capacidad de dividirse indefinidamente, autorrenovarse y diferenciarse en diferentes tipos celulares en presencia de estímulos ambientales adecuados.

Se distinguen CM embrionarias (derivadas de la masa celular interna del blastocito) y CM pluripotenciales adultas, localizadas en la mayoría de los tejidos adultos y que parecen tener un papel fisiológico fundamental en la homeostasis de los distintos órganos³⁰. En los últimos años se está desarrollando la tecnología que permite convertir células diferenciadas adultas en células de fenotipo y con capacidad de diferenciación similar a las CM embrionarias, son las denominadas células pluripotenciales inducidas (iPSCs).

Las terapias celulares actuales para enfermedades retinianas actúan reemplazando directamente los tejidos dañados, o rescatándolos, mediante un efecto neurotrófico paracrino³¹.

Aunque aún en sus inicios, los avances en sistemas de ingeniería de tejidos han abierto la puerta a la búsqueda de sustratos y soportes poliméricos para la liberación de células con la esperanza de mejorar la adhesión, diferenciación, proliferación y migración postrasplante en el entorno del huésped. Así, se ha desarrollado recientemente un novedoso sistema para inyección subretiniana de células por vía supracoroidea, el Palucorcel, que se está empleando en 21 pacientes en un estudio en fase II³².

Actualmente existen numerosos estudios, con CM de distintos orígenes, y diferentes sistemas de liberación, algunos en marcha y otros ya finalizados. Generalmente se pueden dividir en dos categorías: regenerativa o trófica. La primera emplea células diferenciadas de EPR o FR derivados de CM para reemplazar las células dañadas y restaurar su función. En la terapia trófica, las CM se mantienen indiferenciadas, y tratan de restaurar o preservar el tejido dañado modificando el microambiente celular mediante la liberación de citoquinas o las interacciones célula-célula³¹.

Ya han finalizado ensayos clínicos de tratamiento de RP mediante inyección intravítreo de CM con resultados satisfactorios³³.

Investigación clínica

Ensayo clínico TC/RP

La inexistencia de tratamiento regenerativo para los pacientes afectos de RP, sumado a los alentadores datos de seguridad y eficacia obtenidos en modelos animales de experimentación, motivaron a nuestro grupo a iniciar una línea de investigación con terapia celular en patologías degenerativas retinianas.

Las células mononucleadas de médula ósea (CMN-MO) autólogas fueron el tipo celular elegido. El motivo de esta elección fue no excluir ningún subgrupo celular que pudiera ayudar a la potencial eficacia del injerto ante la gran heterogeneidad de células madre existentes en la MO, que tienen potencialidades variables de autorrenovación y especificación.

Las CMN-MO son un producto de terapia avanzada (TA), es decir, un medicamento de uso humano y, por tanto, sujeto a su legislación. Al igual que para cualquier otro tipo de medicamento, toda investigación clínica con medicamentos de TA se debe realizar a través de la puesta en marcha de un ensayo clínico (EC), por lo que debe cumplirse la legislación vigente sobre ensayos clínicos con medicamentos.

En octubre de 2014 se puso en marcha el “Ensayo clínico en fase I de inyección intravítreo de células madre de médula ósea autólogas en pacientes con retinosis pigmentaria (TC/RP)” con n.º EudraCT 2012-00618-12 y registrado en clinicaltrials.gov (NCT02280135). La estrategia del EC, autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS), con calificación del medicamento “Células mononucleares de médula ósea autólogas no expandidas” como producto en fase de investigación clínica (PEI 06-074), y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) de nuestro hospital y del hospital Reina Sofía, dónde se realizan los estudios electrofisiológicos; es la protección de las células del EPR y los FR de pacientes con RP con la infusión intravítreo de CMN-MO autólogas.

Es un EC fase I, prospectivo, aleatorizado, paralelo, doble ciego, controlado con placebo, cuyo objetivo principal es evaluar la seguridad del medicamento en investigación y del procedimiento (inyección intravítreo de CMN-MO autólogas) en pacientes con RP mediante el análisis de la tasa de acontecimientos adversos. Así mismo, durante la fase de seguimiento se evalúan parámetros oftalmológicos y electrofisiológicos indicativos de enlentecimiento o mejora en la evolución de la degeneración retiniana de estos pacientes.

Es un EC independiente que tipifica la investigación clínica traslacional y la colaboración interhospitalaria y multidisciplinar, promovido por la Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS) y que obtuvo financiación por parte de la Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad en la convocatoria 2011 (Orden SPI/2885/2011 de 20 de octubre).

Fase de selección

Durante la visita de selección, en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), se estableció o se confirmó el diagnóstico de RP.

Tras la firma del consentimiento informado, se realizaron todas las pruebas correspondientes para verificar que el paciente cumplía todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión: valoración oftalmológica (historia clínica, test de calidad de vida, agudeza visual, visión cromática, sensibilidad al contraste, presión intraocular, examen del polo anterior y posterior, estudio de retina, grosor de capas retinianas, campo visual y sensibilidad macular mediante microperimetria, estudio de fondo de ojo, etc.), valoración electrofisiológica (electrorretinograma y potenciales evocados visuales), hemograma, bioquímica, coagulación, serología, test de embarazo, valoración preanestesia (ECG y radiografía de tórax).

Los pacientes incluidos en el EC recibieron una inyección intravítreas vía *par plana* de CMN-MO autólogas (0,1 mL) en uno de los ojos siguiendo los protocolos de actuación de oftalmología para inyecciones intravítreas, y una inyección subconjuntival de suero fisiológico (placebo) en el ojo contralateral. El ojo en el que se inyectaron las CMN-MO autólogas fue determinado al azar de manera centralizada mediante un programa informático.

Fase de obtención, procesamiento, intervención e inyección intravítreas de CMN de MO autólogas / inyección subconjuntival de suero fisiológico

El marco legal vigente requiere que los medicamentos en investigación de TA sean fabricados en centros autorizados. En España, estos centros deben contar con la autorización de la AEMPS y con la certificación de cumplimiento de Normas de Correcta Fabricación (NCF o GMP, de *Good Manufacturing Practice* en inglés).

En este sentido, el medicamento se fabricó bajo condiciones GMP en la Unidad de Producción Celular del HCUVA (fig. 1).

Figura 1.

Unidad de Producción Celular
del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca



La misma mañana de la inyección celular, hematólogos experimentados del Servicio de Hematología del HCUVA procedieron a la extracción de forma estéril en quirófano de 120 mL de MO del paciente, en posición de decúbito supino, mediante punciones repetidas de ambas espinas ilíacas postero-superiores bajo anestesia local de la piel, tejido celular subcutáneo y periostio, y sedación suave.

Se extrajo un máximo de 3 mL de MO por punción para evitar la contaminación de la sangre medular. La punción se realizó con trócar heparinizado (heparina 5% 25.000 UI/mL. Ref 628677.7. Hospira Pharma) al que se le acopló jeringas estériles de 10 mL (Ref. N13261. Nipro) precargadas con 0,3 mL de heparina tras retirada del fiador (fig. 2A, 2B).

Figura 2 (arriba).

Harvest de médula ósea

- A: Punción de médula ósea
- B: Aspiración de médula ósea

Figura 3A y 3B (abajo).

A: Recolección de médula ósea en la bolsa de transferencia estéril

- B: Homogeneización de médula ósea

Alcanzados los 10mL de MO en cada jeringa, el contenido se pasó a una bolsa de transferencia estéril de 150mL (Teruflex Transfer Bag. BB*T015CM. Terumo) para ser homogeneizado (fig. 3A, 3B y 4). Así mismo y previo consentimiento informado, se procedió al almacenaje de una muestra de MO en el Biobanco de la Región de Murcia para eventuales estudios sobre RP (etiología, mecanismos patogénicos, determinantes biológicos de la evolución de la enfermedad).

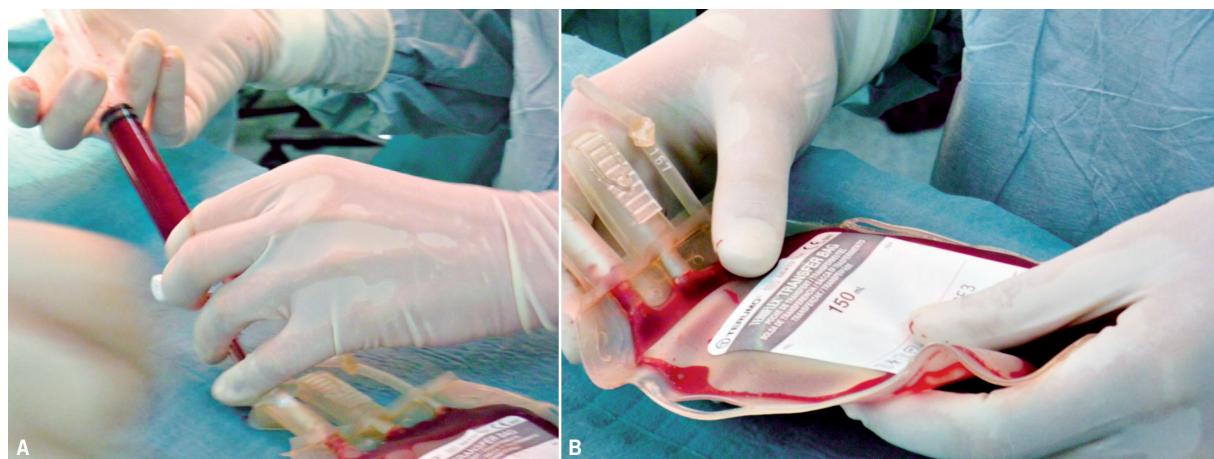
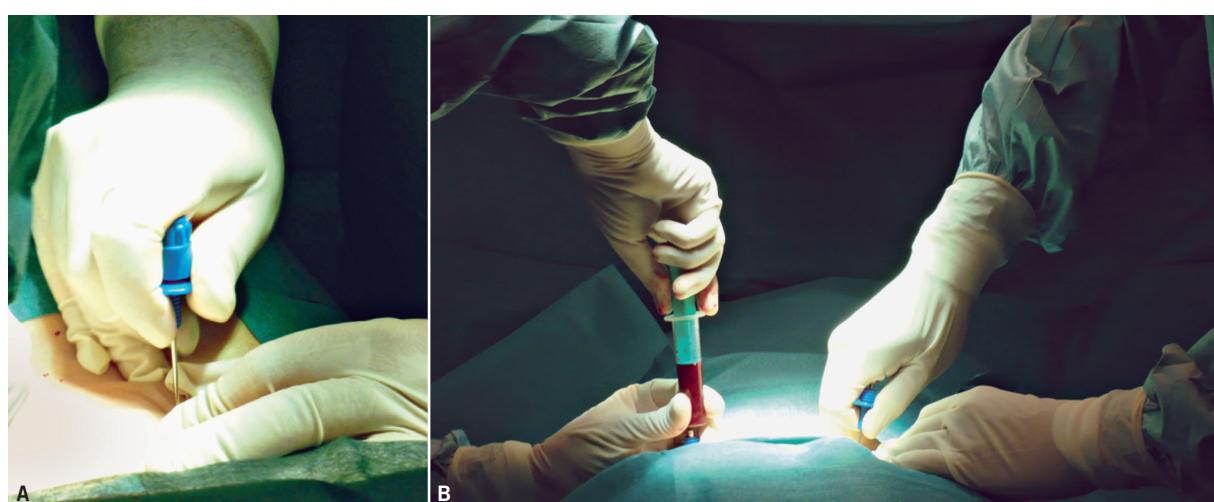
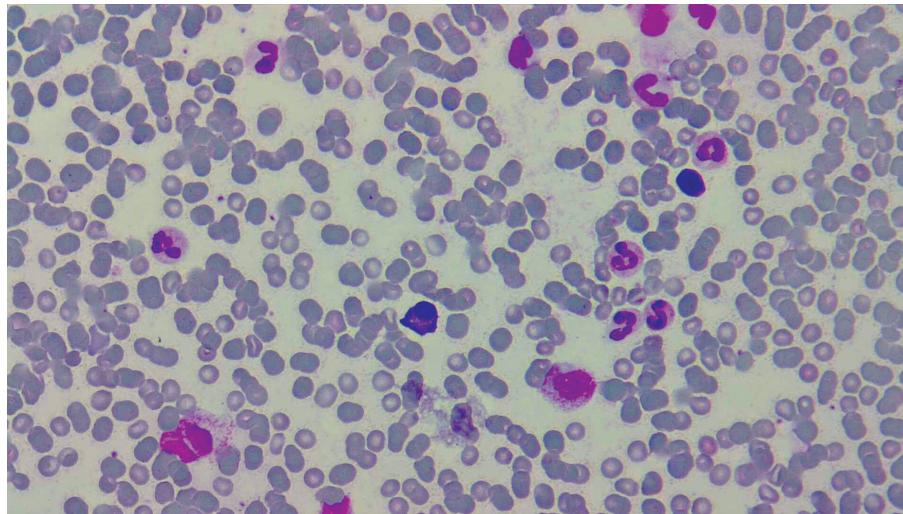


Figura 4.

Imagen de microscopía óptica (MAYGrunwald-Giemsa) de la celularidad total obtenida en aspirado de médula ósea



Una vez aprobado el material biológico de partida, este fue procesado en condiciones GMP en la Unidad de Producción Celular.

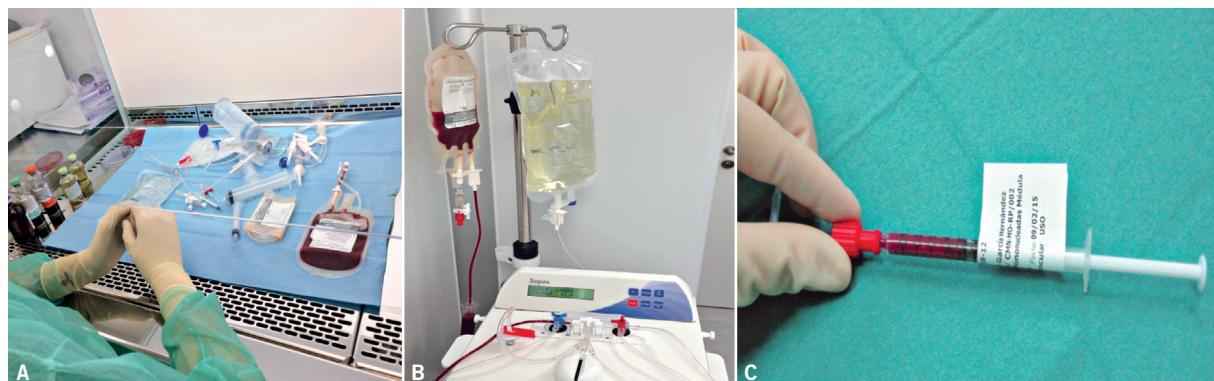
En primer lugar, se procedió a su filtrado en una cabina de flujo laminar clase A y a su centrifugación mediante gradiente de densidad para obtener la capa de CMN (fig. 5A).

Para el procesamiento de las CMN-MO se utilizó el sistema SEPAX S-100 (Biosafe S. A., Suiza) ubicado en un área cualificada en grado D (fig. 5B). El sistema SEPAX S-100 es un procesador celular automatizado en sistema cerrado para la separación celular mediante gradiente de densidad con Ficoll. Las CMN-MO constituyen la capa celular con densidad inferior a 1.077 que queda sobre el ficoll tras la centrifugación.

Posteriormente, se procedió a la reducción de volumen, al envasado y al acondicionamiento, siendo la sustancia activa CMN-MO autólogas y el producto final una suspensión de 0,1 mL para inyección intravítreo, conteniendo $5-60 \times 10^6$ de CMN-MO y suero salino fisiológico al 0,9% de grado clínico como excipiente (fig. 5C).

Figura 5.

A: Filtrado del material biológico de partida en cabina de flujo laminar clase A
B: Obtención de la fracción mononucleada: centrifugación del material biológico de partida mediante gradiente de densidad con sistema SEPAX S-100
C: Envasado del producto final



Se tomaron muestras para los controles de calidad en producto final: test de esterilidad, muestra de referencia, test de Gram urgente, recuento, viabilidad y citometría de flujo.

Todos los productos cumplieron con las especificaciones preestablecidas para el producto final en el momento de la liberación temprana y los resultados del test de esterilidad fueron negativos.

Tres días antes de la intervención, se procedió a la higiene de párpados con toallitas estériles (Lephanet®) dos veces al día y aplicación de 1 gota de azitromicina 15 mg/g (Azydrop®) cada 12 h y 1 gota de hidroclorato de moxifloxacino 5 mg/mL (Vigamox®) cada 8 h en ambos ojos. La noche anterior y la mañana antes de la intervención el paciente recibió 250 mg de acetazolamida (Edemox®). Se realizó profilaxis antibiótica sistémica con moxifloxacino (Actira®) 400 mg/día, comenzando 5 días antes y terminando 3 días después del procedimiento.

El día de la intervención se dilataron ambas pupilas con colirio de tropicamida y se accedió a una vía venosa periférica con suero salino. Adicionalmente, se instiló colirio anestésico doble® (solución 1 mg/mL + 4 mg/mL: hidrocloruro de oxibuprocaína + hidrocloruro de tetracaína) en ambos ojos. Previo a la inyección, se colocó un balón de Honan durante 10 minutos para disminuir la presión intraocular.

Se siguieron los siguientes pasos: asepsia de la piel con povidona yodada al 10%, gota de povidona yodada al 5% y de anestésico doble en fondos de saco conjuntivales de ambos ojos. Tres minutos después se colocaron los campos estériles y el blefarostato. A continuación se procedió a la inyección de 0,1 mL de la suspensión de CMN de MO autólogas de forma perpendicular a la esclera evitando la coincidencia del orificio conjuntival y escleral.

Al finalizar la inyección, se realizó aposición de una hemosteta seca estéril para evitar reflujo. Inmediatamente, se evaluó la percepción de luz, la circulación de la arteria central de la retina, el pulso venoso y la coloración de la papila.

En el ojo contralateral, se procedió a realizar la medición en cuadrante temporal/inferior y la inyección subconjuntival de 0,1 mL de suero fisiológico en el ojo contralateral.

El tratamiento ambulatorio tras el alta consistió en Vigamox® y Pred-Forte® (10 mg/mL de acetato de prednisolona) 1 gota cada 8 h durante 5 días en ambos ojos y 1 comprimido de Edemox® cada 8 h durante 24 h.

Fase de seguimiento

Al día siguiente de la inyección, a los 8, 15, 30 días y a los 2, 3, 4, 6, 9 y 12 meses se realizó una visita presencial con diferentes exámenes clínicos y funcionales en régimen ambulatorio.

Se evaluaron diferentes parámetros (calidad de vida, agudeza visual, visión cromática, sensibilidad al contraste, presión intraocular, examen del polo anterior y posterior, grosor de las capas retinianas a nivel macular y de fibras nerviosas, campo visual y sensibilidad macular, estudio de fondo de ojo y angiofluoresceíngrafía) (fig. 6-7) y electrofisiológicos (función eléctrica retiniana). El EC se encuentra actualmente en marcha, en espera de analizar definitivamente todos los resultados.

Figura 6.
Células inyectadas en el vítreo

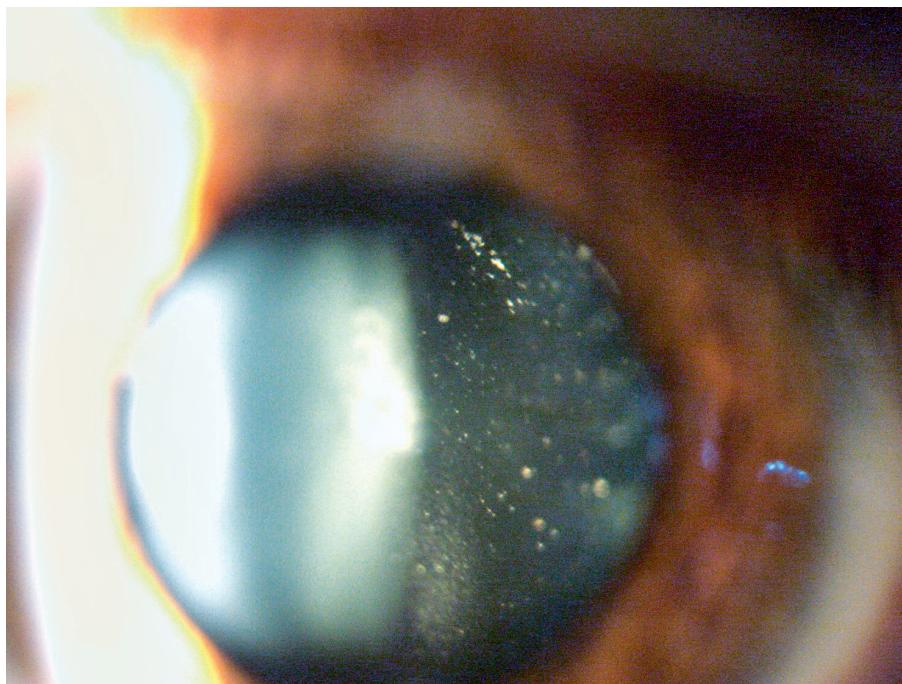
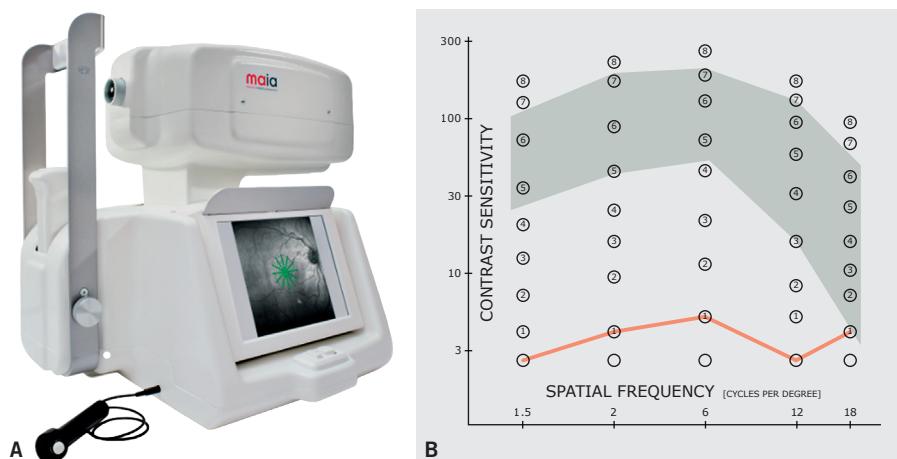


Figura 7.
A: Microperímetro MAIA para la medición de los cambios en la sensibilidad macular en los 10 grados centrales
B: Representación del test de sensibilidad al contraste (línea roja). La franja gris representa el rango de los valores normales



Situación actual

Para la identificación de los posibles pacientes a incluir en el ensayo clínico, se han valorado las historias clínicas de 75 pacientes, de los cuales 44 fueron excluidos y 13 no pudieron ser valorados por no aportar la documentación completa.

Los motivos de exclusión fueron: agudeza visual > 20/70 (10), no diagnóstico de retinosis pigmentaria bilateral (4), rechazo a participar en el estudio (11), no garantía suficiente de adhesión al protocolo (11), concomitancia de cualquier enfermedad sistémica u ocular que invalidase el seguimiento (7) y serología positiva que no se pudiera negativizar (1).

La media de CNT inyectadas vía intravítreo ha sido de $29,17 \times 10^6$ [8,4-44,8], con una media de CMN totales de $12,72 \times 10^6$ [6,83-19,46] y una media de células CD34+ de $0,89 \times 10^6$ [0,43-1,28].

Hasta la fecha se han realizado 78 visitas de seguimiento, siendo la mediana de seguimiento de 513 días [221-669]. Se ha registrado un acontecimiento adverso.

El análisis preliminar de los datos realizado para los pacientes que habían alcanzado 120 días de seguimiento mostró una mejora relativa de la agudeza visual mediante el test ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*) y de la sensibilidad macular mediante microperimetria, tanto en el ojo experimental como en el ojo control, siendo más significativa en el ojo experimental.

Medicina traslacional. Avances en investigación básica

Nuestro grupo lleva más de cinco años dedicado a la investigación con terapia celular con el objetivo de intentar trasladar a la práctica clínica los hallazgos de la ciencia básica en un ejemplo de medicina traslacional, siguiendo para ello una metodología científica rigurosa y adaptándonos a las normas de la buena práctica clínica. En el escalonamiento de la investigación se han considerado:

- Realización de experimentos *in vitro* para incrementar el conocimiento en biología celular de las células madre de la MO
- Experimentos en diferentes modelos animales de degeneración hereditaria de los FR
- Establecimiento de un modelo animal de RP
- Establecimiento de un equipo interdisciplinar implicado en el proyecto
- Diseño y redacción de un ensayo clínico
- Investigación paralela continuada en el laboratorio

Varios modelos animales de RP han mostrado que las CMN-MO podrían enlentecer la degeneración de FR y, en algunos casos, revertir el proceso degenerativo. Se ha postulado que los efectos beneficiosos de las CMN se encuentran en relación con la producción local de factores neurotróficos que prevendrían la muerte de los FR. Se han reportado varios modelos animales en los cuales la liberación intravítreo de CMN mejora la evolución en el proceso de degeneración, con una mejora similar en las medidas de función visual¹⁸⁻²³.

Algunos factores neurotróficos, como el factor neurotrófico ciliar (CNTF) y el factor neurotrófico glial (GDNF), han mostrado proteger los FR de la degeneración. En modelos animales, se ha objetivado engrosamiento de las capas retinianas externas y mejoría en las respuestas fotópicas y escotópicas en el ERG²⁴⁻²⁶.

Con el fin de mejorar el diseño de futuros ensayos clínicos con terapia celular en RP, en 2015, con la ayuda de la Fundación Fundaluce, comenzamos a trabajar en el proyecto de investigación “Inyección intravítreo de células mononucleadas de médula ósea autóloga para el tratamiento de la retinosis pigmentaria. Estudio preclínico de seguridad y eficacia”, bajo la dirección de la Dra. M.^a Paz Villegas Pérez en el Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Universidad de Murcia (fig. 8, 9 y 10).

El objetivo de este estudio es determinar la seguridad, factibilidad y eficacia de la inyección única o secuencial (intravítreo o subretiniana) de CMN-MO humanas en dos modelos experimentales de RP (ratas RCS distróficas y P23H1 homocigóticas) de degeneración hereditaria de FR similar a la degeneración que existe en pacientes afectos de RP.

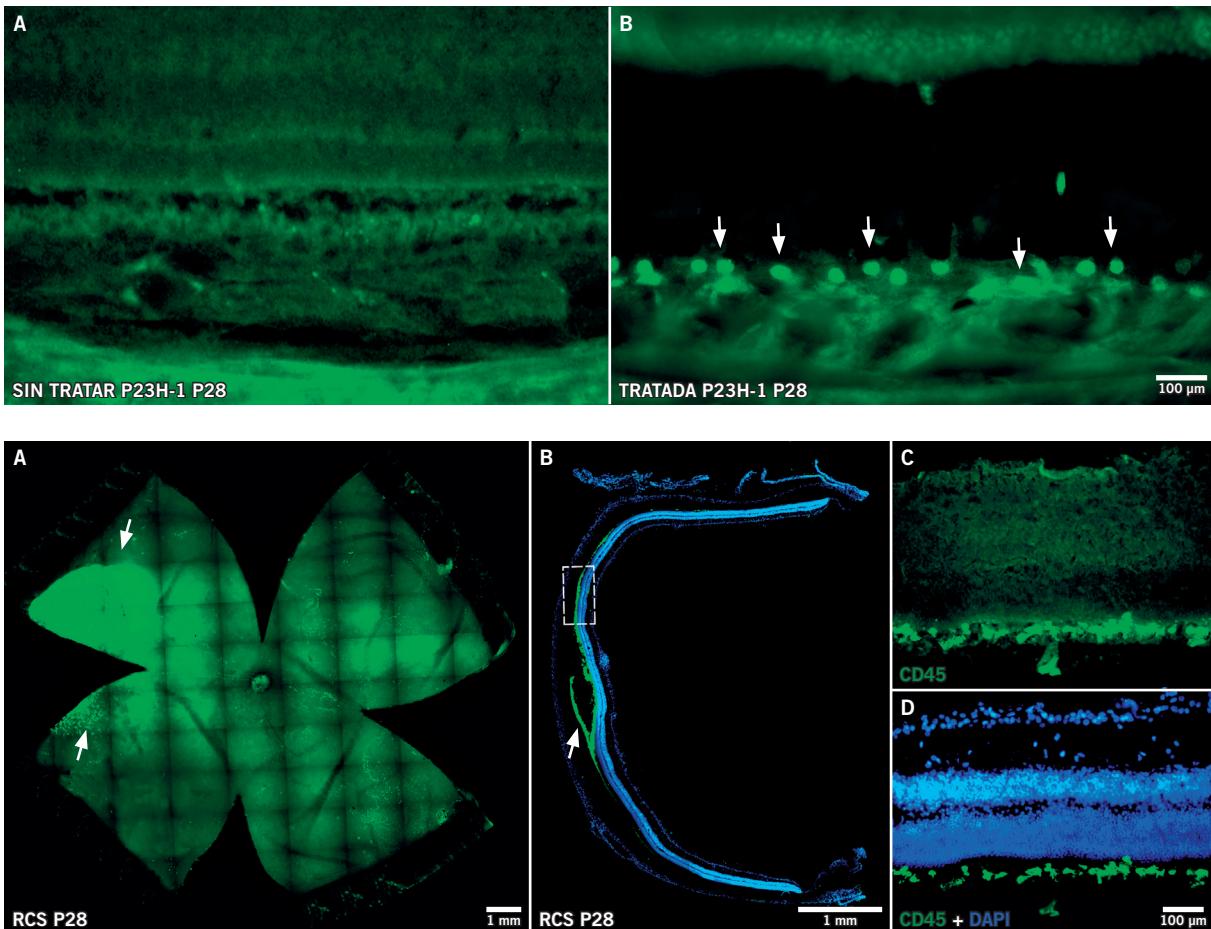


Figura 8 (arriba).

Microfotografías de secciones transversales del ojo completo obtenidas en criostato y marcadas con anticuerpos monoclonales contra CD45 para marcar las CMN-MO en retinas de ratas P23H-1 de 28 días de edad sin tratar (A) y tratadas con inyecciones subretinianas de CMN-MO (B)

Para ello, se está estudiando la toxicidad, la tumorogenicidad y el patrón de biodistribución de las células inyectadas; así mismo, se está analizando la recuperación de los FR con técnicas anatómicas (histología e inmunohistoquímica) y funcionales (electrofisiología).

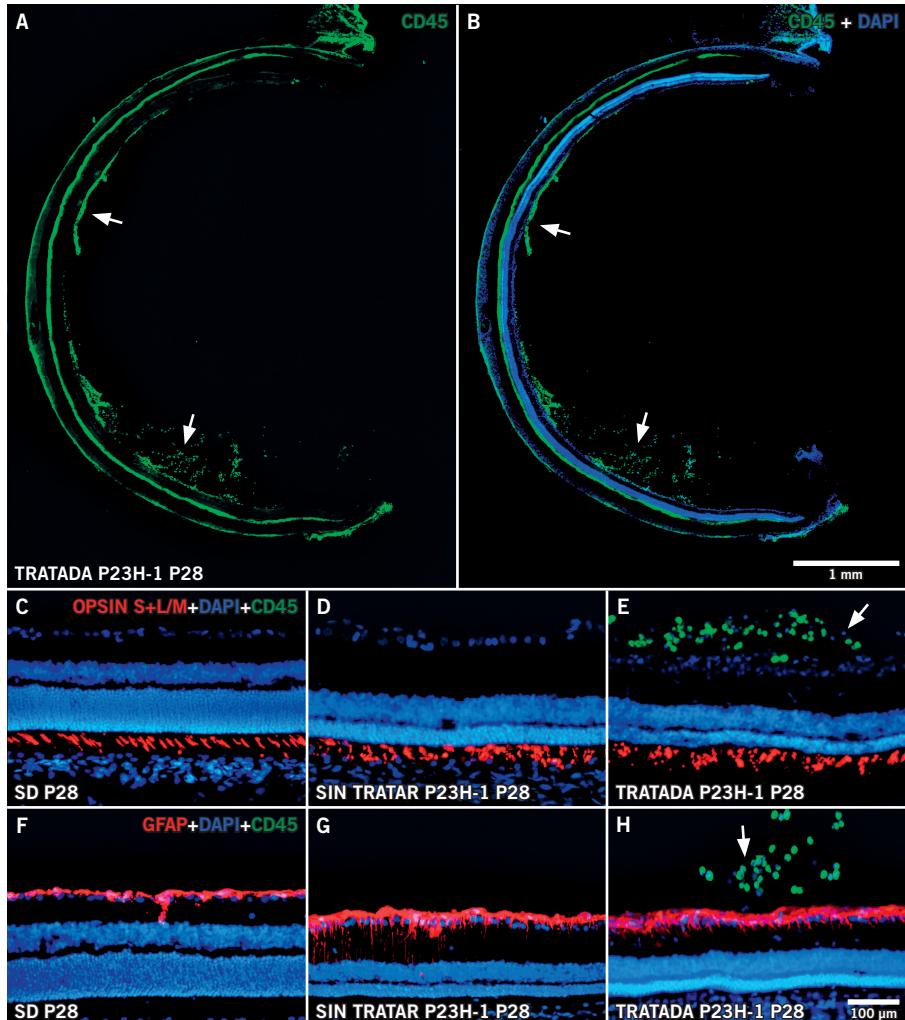
Figura 9 (abajo).
 Fotomontaje de una retina completa montada a plano (A) y microfotografías de secciones transversales de la retina obtenidas en criostato (B-D) de ratas RCS de 28 días de edad tratadas con una inyección subretiniana de CMN-MO. Las retinas fueron incubadas con un anticuerpo monoclonal contra CD45 para marcar las CMN y contrateñidas con DAPI para marcar los núcleos celulares. En el fotomontaje (A) y en las secciones transversales (B-D) se observan las CMN subretinianas marcadas con anti-CD45

El primer modelo utilizado, ratas albinas P23H-1 homocigóticas, tienen sustituida una prolina por una histidina en el codón 23 de la rodopsina, produciendo un estrés oxidativo en el retículo endoplásmico y la consecuente muerte progresiva de los FR. El segundo modelo en estudio son ratas pigmentadas Royal College of Surgeons (RCS), las cuales tienen una mutación en el gen MERTK, que impide la fagocitosis de los segmentos externos de los FR por parte del EPR.

Los animales a estudio se dividieron en un grupo control, que no recibe ninguna inyección, y dos grupos experimentales en función del tipo de inyección que reciben (intravítreas o subretiniana). El primer grupo experimental (inyecciones intravítreas) a su vez se dividió en 2 subgrupos: el primero, que recibió una única inyección, y el segundo, que recibió un total de tres inyecciones, una cada 7 días. El segundo grupo experimental recibió una única inyección subretiniana.

Figura 10.

Microfotografías de secciones transversales del ojo completo (A,B) o de sectores retinianos representativos (C-H) obtenidas en criostato y marcadas con anticuerpos monoclonales contra CD-45 para marcar las células mononucleadas, contra las opsinas S y L/M para marcar los fotorreceptores, contra GFAP para marcar células de macrogliá y contrateñidas con DAPI para marcar los núcleos celulares. En retinas de ratas controles SpragueDawley de 28 días de edad (C,F) y de ratas P23H-1 de 28 días de edad sin tratar (D,G) podemos observar solamente la normal reactividad de los astrocitos con anti-GFAP, mientras que en las retinas de los animales tratados con inyecciones intravítreas de células mononucleadas de la médula ósea (A,B,E,H) se observan además las células mononucleadas marcadas con anti-CD45 en el vítreo cerca de la retina



Las inyecciones intravítreas se realizaron con una aguja de 26G unida a una jeringuilla Hamilton de 10 µL, mientras que las inyecciones subretinianas se realizaron con una aguja de 34G unida a una jeringuilla Hamilton de 5 µL. Sin embargo, en ambas se injectó el mismo volumen y concentración de CMN-MO: 5 µL y 50.000 células/µL.

Todos los animales utilizados fueron inyectados a los 21 días de edad e inmunosuprimidos con ciclosporina oral y dexametasona intraperitoneal.

Los animales que recibieron una única inyección fueron perfundidos 7 o 15 días tras la inyección, mientras que los que recibieron 3 inyecciones fueron analizados una semana después de la última inyección.

De todos los animales se extrajeron los ojos, realizándose secciones transversales en criostato, y las retinas fueron montadas a plano. Las secciones se incubaron con anticuerpos primarios contra: CD45 humano (345808; BD Biosciences, CA EE. UU.) para detectar las CMMO inyectadas; opsinas (S y L/M) (N-20; OPN1SW; Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Alemania)

para detectar los segmentos externos de los conos; rodopsina (Sigma-Aldrich, Madrid, España) para detectar segmentos externos de los bastones; GFAP (C-19: sc-6170; Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Alemania) e Iba-1(019-19741: WakoChemicals, EE. UU.) para detectar células de macro y microglía y todas las secciones se contratiñeron con DAPI para detectar núcleos celulares. Las retinas montadas a plano solo se inmunodetectaron con el anticuerpo contra CD45 humano para detectar las células inyectadas.

Todos los anticuerpos secundarios utilizados estaban conjugados a Alexa-Fluor® (Molecular Probes, Invitrogen Inc., Madrid, España). Todas las secciones se examinaron al microscopio de fluorescencia y se cuantificaron las filas de núcleos en la capa nuclear externa.

Los resultados son preliminares, pero hay que destacar que en ningún animal tratado se objetivó formación de tumores, presencia de necrosis, inflamación o infección u otras complicaciones.

No se observaron complicaciones relacionadas con la cirugía (inyección), ni mediante observación directa del fondo de ojo *in vivo*, ni *ex vivo* se apreciaron anomalías macro o microscópicas, salvo la presencia de las células inyectadas.

Retinosis pigmentaria. Tratamiento clínico en constante evolución

Gracias a los múltiples ensayos clínicos y a la investigación básica que hay en marcha actualmente en el mundo, los oftalmólogos estamos más cerca de poder ofrecer a nuestros pacientes al menos un enlentecimiento de la imparable degeneración retiniana producida por la Retinosis Pigmentaria.

Bibliografía

- 1.** Ryan SJ, Hinton DR, Schachat AP, Wilkinson P. *Retina*. Tomo 1. 4.^a ed., Ed. Marban S. L., Madrid 2009; 363-447.
- 2.** Alonso L, Grimaldos P, Bosch R, Boix J, Ivorra P. *Retinosis pigmentosa: Hallazgos clínicos, epidemiológicos y distribución genética en 92 afectados*. Arch Soc Española Oftalmol 1991; 61: 325-30.
- 3.** Farrar GJ, Kenna PF, Humphries P. *On the genetics of retinitis pigmentosa and on mutation-independent approaches to therapeutic intervention*. EMBO J 2002; 21: 857-64.
- 4.** Berson EL. *Retinitis pigmentosa*. The Friedenwald Lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci 1993; 34: 1659-76.
- 5.** Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. *Retinitis pigmentosa*. Lancet 2006; 368: 1795-1809.
- 6.** Fernández E. *Retinosis Pigmentaria: Preguntas y Respuestas*. 1.^a ed., Ed. Prismàtic Arts Gràfiques, S.A., Terrassa 2007. Cátedra de Investigación en Retinosis Pigmentaria “Bidons Egara”, Universidad Miguel Hernández, Elche.
- 7.** Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS. *Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa*. Arch Ophthalmol 2007; 125: 151-8.
- 8.** *Guía clínica para el diagnóstico diferencial y el manejo de las enfermedades hereditarias de la retina y la coroides*. Guías de Práctica Clínica de la SERV. En línea: <www.serv.es> Copyright © 2009, Sociedad Española de Retina y Vítreo.
- 9.** Yuzbasioglu E, Artunay O, Rasier R, Sengul A, Bahcecioglu H. *Intravitreal bevacizumab (Avastin) injection in retinitis pigmentosa*. Curr Eye Res 2009; 34: 231-7.
- 10.** Berson, EL. *Clinical Ophthalmology*. Vol. 3. Revised edition 2004. Ed Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia 2004. Chap 24.
- 11.** Li ZY, Possin DE, Milam AH. *Histopathology of bone spicule pigmentation in retinitis pigmentosa*. Ophthalmology 1995; 102: 805-16.
- 12.** Milam AH, Li ZY. *Retinal pathology in retinitis pigmentosa: Considerations for therapy*. Plenum Press, New York 1995.
- 13.** Santos A, Humayun MS, de Juan E Jr, Greenburg RJ, Marsh MJ, Klock IB, Milam AH. *Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis*. Arch Ophthalmol 1997; 115: 511-5.

- 14.** Hamel C. *Retinitis Pigmentosa*. Review. Orphanet Journal of Rare Diseases 2006; 1:40. doi: 10.1186/1750-1172-1-40.
- 15.** Shintani K, Shechtman D, Gurwood A. *Review and update: Current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa*. Optometry 2009; 80: 384-401.
- 16.** Musarella M, MacDonald IM. *Current concept in the treatment of retinitis pigmentosa*. Journal of Ophthalmology 2010; 2011: 1-8.
- 17.** Jacobson S, Cideciyan A. *Treatment possibilities for retinitis pigmentosa*. N Engl J Med 2010; 363: 1669-71.
- 18.** Dahlmann-Noor A, Vijay S, Jayaram H, Limb A, Khaw PT. *Current approaches and future prospects for stem cell rescue and regeneration of the retina and optic nerve*. Can J Ophthalmol 2010; 45: 333-41. doi: 10.3129/i10-077.
- 19.** Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Hayes KC, Nicholson BW, Weigel-DiFranco C, Willett WA. *Randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa*. Arch Ophthalmol 1993; 111: 761-72.
- 20.** Hajali M, Fishman GA, Anderson RJ. *The prevalence of cystoid macular oedema in retinitis pigmentosa patients determined by optical coherence tomography*. Br J Ophthalmol 2008; 92: 1065-8.
- 21.** Hirakawa H, Iijima H, Gohdo T, Tsukahara S. *Optical coherence tomography of cystoid macular edema associated with retinitis pigmentosa*. Am J Ophthalmol 1999; 128: 185-91.
- 22.** Vinores SA, Küchle M, Derevjanik NL, Henderer JD, Mahlow J, Green WR, Campochiaro PA. *Blood-retinal barrier breakdown in retinitis pigmentosa: light and electron microscopic immunolocalization*. Histol Histopathol 1995; 10: 913-23.
- 23.** Yoshida N, Ikeda Y, Notomi S, Ishikawa K, Murakami Y, Hisatomi T, Enaida H, Ishibashi T. *Laboratory evidence of sustained chronic inflammatory reaction in retinitis pigmentosa*. Ophthalmology 2013; 120: e5-12.
- 24.** Yoshida N, Ikeda Y, Notomi S, Ishikawa K, Murakami Y, Hisatomi T, Enaida H, Ishibashi T. *Clinical evidence of sustained chronic inflammatory reaction in retinitis pigmentosa*. Ophthalmology 2013; 120: 100-5.
- 25.** Heckenlively JR, Jordan BL, Aptsiauri N. *Association of antiretinal antibodies and cystoid macular edema in patients with retinitis pigmentosa*. Am J Ophthalmol 1999; 127: 565-73.
- 26.** Fishman GA, Gilbert LD, Fiscella RG, Kimura AE, Jampol LM. *Acetazolamide for treatment of chronic macular edema in retinitis pigmentosa*. Arch Ophthalmol 1989; 107: 1445-52.

- 27.** Ikeda Y, Hisatomi T, Yoshida N, Notomi S, Murakami Y, Enaida H, Ishibashi T. *The clinical efficacy of a topical dorzolamide in the management of cystoid macular edema in patients with retinitis pigmentosa*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2012; 250: 809-14.
- 28.** Srour M, Querques G, Leveziel N, Zerbib J, Tilleul J, Boulanger-Scemama E, Souied EH. *Intravitreal dexamethasone implant (Ozurdex) for macular edema secondary to retinitis pigmentosa*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2013; 251: 1501-6.
- 29.** Ahn SJ, Kim KE, Woo SJ, Park KH. *The Effect of an Intravitreal Dexamethasone Implant for Cystoid Macular Edema in Retinitis Pigmentosa: A Case Report and Literature Review*. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina 2014; 45: 160-4.
- 30.** Tucker BA, Mullins RF, Stone EM. *Stem cells for investigation and treatment of inherited retinal diseases*. Hum Mol Genet 2014; 23: r9-16.
- 31.** Ehmann D, Shahlaee A, Ho AC. *Cell therapy for retinal disease*. Curr Opin Ophthalmol 2016; 27: 185-90.
- 32.** Riemann C. *Comunicación oral. 16th EURETINA CONGRESS*. Copenhagen, septiembre 2016.
- 33.** Siqueira R, Volterelli J, Vierira MA, Jorge R. *Possible mechanisms of retinal function recovery with the use of cell therapy with bone marrow-derived stem cells*. Arq Bras Oftalmol 2010; 73: 474-9.
- 34.** Smith L. *Bone marrow derived stem cells preserve cone vision in retinitis pigmentosa*. J Clin Invest 2004; 114: 755-7.
- 35.** Otani A, Dorrell MI, Kinder K, Moreno SK, Nusinowitz S, Banin E, Heckenlively J, Friedlander M. *Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells*. J Clin Invest 2004; 114: 765-74.
- 36.** Wang S, Lu B, Girman S, Duan J, McFarland T, Zhang QS, Grompe M, Adamus G, Appukuttan B, Lund R. *Non-Invasive Stem Cell Therapy in a Rat Model for Retinal Degeneration and Vascular Pathology*. PLoS One 2010; 5: e9200. doi: 10.1371/journal.pone.0009200.
- 37.** Idelson M, Alper R, Obolensky A, Ben-Shushan E, Hemo I, Yachimovich-Cohen N, Khaner H, Smith Y, Wiser O, Gropp M, Cohen MA, Even-Ram S, Berman-Zaken Y, Matzrafi L, Rechavi G, Banin E, Reubinoff B. *Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional retinal pigment epithelium cells*. Cell Stem Cell 2009; 5: 396-408.

- 38.** Jonas JB, Witzens-Harig M, Arseniev L, Ho AD. *Intravitreal autologous bone marrow-derived mononuclear cell transplantation: a feasibility report*. Acta Ophthalmol 2008; 86: 225-6.
- 39.** Gamm D, Meyer J. *Directed differentiation of human induced pluripotent stem cells: a retina perspective*. Regen Med 2010; 5: 315-7.
- 40.** Dutt K, Cao Y. *Engineering Retina from Human Retinal Progenitors (Cell Lines)*. Tissue Eng Part A 2009; 15: 1401-13. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0358.
- 41.** Gregory-Evans K, Chang F, Hodges M, Gregory-Evans Ch. *Ex vivo gene therapy using intravitreal injection of GDNF - secreting mouse embryonic stem cells in a rat model of retinal degeneration*. Molecular Vision 2009; 15: 962-73.
- 42.** Jian Q, Li Y, Yim ZQ. *Rat BMSCs initiate retinal endogenous repair through NGF/Trk A signaling*. Exp Eye Res 2015; 132: 34-7.
- 43.** Siqueira RC, Messias A, Gurgel VP, Simões BP, Scott IU, Jorge R. *Improvement of ischaemic macular oedema after intravitreal injection of autologous bone-marrow derived haematopoietic stem cells*. Acta Ophthalmol 2015; 93: e174-6.
- 44.** Megaw R, Dhillon B. *Stem cells therapies in the management of diabetic retinopathy*. Curr Diab Rep 2014; 14: 498.

NOMBRE DEL MEDICAMENTO: Duokopt 20 mg/ml + 5 mg/ml colirio en solución. **COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA:** Cada mililitro contiene 22,25 mg de dorzolamida hidrocloruro correspondiente a 20 mg de dorzolamida y 6,83 mg de timolol maleato correspondiente a 5 mg de timolol. Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección *Lista de excipientes*.

FORMA FARMACÉUTICA: Colirio en solución. Solución transparente incolora a ligeramente amarillenta, con un pH entre 5,3 y 5,9, una osmolalidad de 240-300 mOsmol/kg. **DATOS CLÍNICOS. Indicaciones terapéuticas:** Este medicamento está indicado en el tratamiento de la presión intraocular elevada (PIO) en pacientes con glaucoma de ángulo abierto o glaucoma pseudoxefoliativo cuando la monoterapia con un betabloqueante tópico no es suficiente. **Posología y forma de administración:** Posología: La dosis es una gota de Duokopt dos veces al día en el saco conjuntival del ojo u ojos afectados. **Este medicamento es una solución estéril que no contiene conservantes.** Población pediátrica: No se ha establecido la eficacia de la formulación combinada dorzolamida/timolol en pacientes de 0 a 18 años de edad. No se ha establecido la seguridad en niños de edades comprendidas entre los 0 y los 2 años de edad (para información relativa a la seguridad en pacientes pediátricos ≥ 2 y < 6 años). Forma de administración: Si se está utilizando otro medicamento oftálmico tópico, Duokopt y este otro medicamento deben administrarse al menos con diez minutos de diferencia. Se debe instruir a los pacientes para evitar que la punta del recipiente dispensador entre en contacto con los ojos o con las estructuras que los rodean. También se debe informar a los pacientes de que las soluciones oftálmicas, si no se manipulan adecuadamente, pueden contaminarse con bacterias comunes causantes de infecciones oculares. La utilización de soluciones contaminadas puede dar lugar a trastornos oculares graves y la subsiguiente pérdida de la visión. Se debe informar a los pacientes de las siguientes instrucciones de uso: Antes de utilizar el medicamento por primera vez, deben asegurarse de que el precinto de seguridad esté intacto. Después, tienen que arrancar el precinto de seguridad para abrir el frasco. 1. Antes de cada uso, los pacientes deben lavarse bien las manos y sacar el tapón del extremo del frasco. Deben evitar el contacto de los dedos con la punta del frasco. Tienen que presionar hacia abajo varias veces con el frasco boca abajo, a fin de activar el mecanismo de bombeo hasta que apareza la primera gota. Este proceso solamente es necesario efectuarlo la primera vez de utilización del frasco y no es necesario repetirlo en las siguientes administraciones. 2. Deben colocar el pulgar en la pestana de la parte superior del frasco y el índice en la base del mismo. A continuación, tienen que colocar el dedo medio en la segunda pestana de la base del frasco. Han de sostener el frasco boca abajo. 3. Para utilizarlo, deben inclinar la cabeza ligeramente hacia atrás y sostener el frasco gotero en posición vertical sobre su ojo. Con el dedo índice de la otra mano, tienen que tirar del párpado inferior ligeramente hacia abajo. El espacio creado se llama saco conjuntival inferior. Deben evitar el contacto de la punta del frasco con los dedos o los ojos. Para aplicar una gota en el saco conjuntival inferior del (de los) ojo(s) afectados, han de presionar brevemente, pero con firmeza, el frasco. Debido a que la dosificación es automática, se libera exactamente una gota en cada bombeo. Si la gota no cae, deben agitar suavemente el frasco con el fin de eliminar la gota restante de la punta. En este caso, tienen que repetir el paso 3, 4. Cuando se hace oclusión nasolágrimal o se cierran los párpados durante los minutos, se reduce la absorción sistémica. Esto puede dar lugar a una disminución en las reacciones adversas sistémicas y a un aumento en la actividad local. 5. Inmediatamente después de su uso, deben cerrar la punta del frasco con el capuchón. **Contraindicaciones:** Duokopt está contraindicado en pacientes con: Hipersensibilidad a uno o a los dos principios activos, o a alguno de los excipientes incluidos en la sección *Lista de excipientes*; enfermedad reactiva aérea, incluyendo asma bronquial o antecedentes de asma bronquial, o enfermedad obstructiva crónica grave; bradicardia sinusal, síndrome del nodo sinusal entumido, bloqueo sinoauricular; bloqueo auriculovenricular de segundo o tercer grado no controlado con marcapasos, insuficiencia cardíaca manifiesta, choque cardiogénico; insuficiencia renal grave ($\text{CrCl} < 30 \text{ ml/min}$) o acidosis hipercrólemica. Estas contraindicaciones están basadas en los principios activos y no son exclusivas de la combinación. **Advertencias y precauciones especiales de empleo:** Efectos sistémicos: Aunque se trata de una aplicación tópica, timolol se absorbe sistémicamente. Debido a un componente betablocker, timolol, pueden ocurrir los mismos tipos de reacciones adversas cardiovasculares, pulmonares y oculares, que las que se presentan con los bloqueantes betablockers sistémicos. La incidencia de reacciones adversas sistémicas después de la administración oftálmica tópica es más baja que para la administración sistémica. Para reducir la absorción sistémica, ver sección *Posología y forma de administración*. Reacciones cardiovasculares/respiratorias: **Trastornos cardíacos:** Se debe valorar críticamente en pacientes con enfermedades cardiovasculares (p. ej., cardiopatía coronaria, angina de Prinzmetal e insuficiencia cardíaca) y terapia hipotensora con betablockers, y se debe considerar la terapia con otros ingredientes activos. Se debe vigilar en pacientes con enfermedades cardiovasculares graves de deterioro de enfermería de estos enfermos y de reacciones adversas. Debido a su efecto negativo en el tiempo de contracción, los betablockers deben ser dados solamente con precaución a pacientes con bloqueo cardíaco de primer grado. **Trastornos vasculares:** Se debe tratar con precaución a los pacientes con alteración/trastornos circulatorios periféricos graves (p. ej., formas graves de la enfermedad de Raynaud o síndrome de Raynaud). **Trastornos respiratorios:** Se han notificado reacciones respiratorias, incluyendo muerte, debido a broncoespasmos en pacientes con asma después de la administración de algunos betablockers oftálmicos. Duokopt se debe utilizar con precaución en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica leve/moderada (EPOC) y solo si el beneficio potencial supera el riesgo potencial. **Insuficiencia hepática:** Este medicamento no se ha estudiado en pacientes con insuficiencia hepática y, por lo tanto, se debe utilizar con precaución en estos pacientes. **Insuficiencia renal:** No ha sido estudiado el uso de este medicamento en pacientes que sufren insuficiencia renal, por tanto, se debe utilizar con precaución en estos pacientes. Ver sección *Contraindicaciones*. **Inmunología e hipersensibilidad:** A pesar de ser de aplicación tópica, este medicamento puede ser absorbido sistémicamente. La dorzolamida contiene un grupo sulfonamido, lo cual ocurre también en las sulfonamidas. Por lo tanto, con la administración tópica, se pueden presentar el mismo tipo de reacciones adversas que se presentan con la administración sistémica de sulfonamidas, incluyendo reacciones graves, como el síndrome Stevens-Johnson y necrólisis epidémica tóxica. En caso de ocurrir signos de reacciones graves o de hipersensibilidad, debe interrumpirse el uso de este preparado. Con el uso de este medicamento se han observado efectos adversos oculares locales, similares a los observados con colirios de dorzolamida hidrocloruro. Si se producen dichas reacciones, se debe considerar la interrupción del tratamiento con Duokopt. **Reacciones anafilácticas:** Durante la administración de betablockers, los pacientes con historia de atopía o antecedentes de reacciones anafilácticas graves a diversos alérgenos pueden ser más reactivos a la exposición repetida a estos alérgenos y pueden no responder a las dosis habituales de adrenalina utilizadas para tratar las reacciones anafilácticas. Tratamiento concomitante. **Efectos adicionales de la inhibición de la anhidrasa carbónica:** La terapia con inhibidores orales de la anhidrasa carbónica ha sido asociada con urolitiasis como consecuencia de alteraciones ácido-base, especialmente en pacientes con antecedentes de cálculo renal. Aunque no se han observado alteraciones del equilibrio ácido-base con la formulación combinada de dorzolamida/timolol con conservantes, se ha notificado urolitiasis con baja frecuencia. Dado que Duokopt contiene un inhibidor tópico de la anhidrasa carbónica que se absorbe sistémicamente, los pacientes con antecedentes de cálculo renal pueden tener un riesgo mayor de padecer urolitiasis mientras usan este medicamento. **Otros agentes betablockers:** El efecto sobre la presión intraocular o los efectos conocidos de los betablockers sistémicos pueden potenciarse si timolol se administra a pacientes que ya reciben un betablocker sistémico. La respuesta de estos pacientes debe ser estrechamente observada. No está recomendado el uso de dos bloqueantes betablockers tópicos (ver sección *Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción*). No se recomienda el uso de dorzolamida e inhibidores orales de la anhidrasa carbónica. Retirada del tratamiento: Como con betablockers sistémicos, cuando sea necesario suspender el timolol oftálmico en pacientes con enfermedad cardíaca coronaria, el tratamiento debe ser retirado de forma gradual. Efectos adicionales del bloqueo beta: **Hipoglucemia/diabetes:** Los betablockers deben ser administrados con precaución en pacientes sujetos a hipoglucemia espontánea o a pacientes con diabetes lábil, dado que los betablockers pueden enmascarar los signos y síntomas de la hipoglucemia aguda. Los betablockers pueden, también, enmascarar los signos de hipertiroidismo. Una retirada brusca de la terapia betablockante puede dar lugar a un empeoramiento de los síntomas. **Anestesia quirúrgica:** Las preparaciones oftálmicas betablockantes pueden bloquear los efectos betaagonista sistémicos, p.ej. de la adrenalina. Se debe informar al anestésico si el paciente está utilizando timolol. La terapia con betablockers puede agravar los síntomas de miastenia gravis. Efectos oculares: El tratamiento de pacientes con glaucoma agudo de ángulo cerrado requiere intervenciones terapéuticas además de los agentes hipotensores oculares. Este medicamento no ha sido estudiado en pacientes con glaucoma agudo de ángulo cerrado. Se han notificado casos de edema corneal y descompensación corneal irreversible en pacientes con defectos corneales crónicos preexistentes y/o historia de cirugía intraocular mientras usaban dorzolamida. Existe un incremento potencial de desarrollo edema corneal en pacientes con un recuento bajo de células del endotelio. Se deben tomar precauciones al prescribir Duokopt a este grupo de pacientes. **Desprendimiento coroidal:** Se ha notificado desprendimiento coroidal con la administración de tratamientos supresores acusados (p.ej., timolol, acetazolamida) después de los procedimientos de filtración. **Enfermedades corneales:** Los betablockers oftálmicos pueden inducir sequedad de ojos. Los pacientes con enfermedades corneales deben ser tratados con precaución. Al igual que con el uso de otros fármacos antiglaucoma, se ha notificado una disminución en la respuesta a timolol maleato oftálmico después de su uso prolongado en algunos pacientes. No obstante, en ensayos clínicos en los cuales se hizo un seguimiento a 164 pacientes durante al menos tres años, no se observó ninguna diferencia significativa en la presión intraocular media después de la estabilización inicial. Utilización de lentes de contacto: Este medicamento no se ha estudiado en pacientes usuarios de lentes de contacto. Uso en deportistas: Este medicamento contiene timolol, que puede producir un resultado positivo en las pruebas de control de dopaje. **Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción:** No se han realizado estudios específicos de interacción medicamentosa con Duokopt. En un estudio clínico, se utilizó la formulación dorzolamida/timolol conjuntamente con los siguientes tratamientos sistémicos sin que hubiesen evidencias de interacciones adversas: inhibidores de la ECA, bloqueantes de los canales de calcio, diuréticos, medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, incluyendo ácido acetilsalicílico, y hormonas (p.ej., estrógenos, insulina, tiroxina). Cuando se administra la solución betablockante oftálmica de forma concomitante con bloqueantes de los canales de calcio, medicamentos causantes de depresión de las catecolaminas o agentes bloqueantes betablockers, antirrítmicos (como amiodarona), glucósidos digitálicos, parasympaticomiméticos, guanetidina, narcóticos e inhibidores de la monoamina oxidasa (MAO), existe la posibilidad de que se produzcan efectos aditivos que resultan en hipertensión y/o marcada bradicardia. Durante el tratamiento combinado con inhibidores del CYP2D6 (p. ej., quinidina, fluoxetina, paroxetina) y timolol, se ha notificado un betablocker sistémico potenciado (p. ej., disminución de la frecuencia cardíaca, depresión). Aunque la formulación de dorzolamida/timolol con conservantes por si sola tiene un efecto escaso o nulo sobre el tamaño de la pu-

pila, ocasionalmente se ha comunicado midriasis como resultado del uso concomitante de betablockantes oftálmicos y adrenalina (epinefrina). Los betablockantes pueden aumentar el efecto hipoglucémico de los fármacos antiidiabéticos. Los agentes bloqueantes betablockers orales pueden exacerbar la hipertensión rebote que puede acompañar a la retirada de la clonidina. **Fertilidad, embarazo y lactancia:** Embarazo: Duokopt no se debe utilizar durante el embarazo. Dorzolamida: No se dispone de datos clínicos adecuados en embarazos expuestos. En conejos, dorzolamida produce efectos teratogénicos a dosis maternotóxicas (ver sección *Período de validez*). Timolol: No existen datos adecuados sobre el uso de timolol en mujeres embarazadas. No se debe utilizar timolol durante el embarazo a menos que sea claramente necesario. Para reducir la absorción sistémica, ver sección *Posología y forma de administración*. Los estudios epidemiológicos no han revelado efectos de malformación, pero muestran un riesgo de retraso en el crecimiento intrauterino cuando se administran betablockantes por vía oral. Además, cuando los betablockantes han sido administrados hasta el parto se han observado en los neonatos los signos y síntomas de los betablockantes (p. ej., bradicardia, hipotensión, dificultad respiratoria e hipoglucemias). Si se administra este medicamento hasta el parto, el neonato debe ser cuidadosamente monitorizado durante los primeros días de vida. Lactancia: Se desconoce si la dorzolamida se excreta en la leche materna. En ratas lactantes a las que se les administraba dorzolamida, se apreció un descenso en la ganancia de peso de la progenie. Los betablockantes se excretan en la leche materna. Sin embargo, a las dosis terapéuticas de timolol en colirio en solución no es probable que estuvieran presentes, en la leche materna, suficientes cantidades como para producir síntomas clínicos de betablockantes en lactantes. Para reducir la absorción sistémica, ver sección *Posología y forma de administración*. No se recomienda la lactancia si se requiere el tratamiento con Duokopt. Fertilidad: Se dispone de datos para cada sustancia activa, pero no en la combinación fija de dorzolamida hidrocloruro y timolol maleato. Sin embargo, a las dosis terapéuticas de este medicamento en colirio en solución, no se esperan efectos en la fertilidad. **Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas:** No se han realizado estudios de los efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas. La influencia de Duokopt sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas es nula o insignificante; como en otros medicamentos oftálmicos, la instilación de gotas en el ojo puede causar visión borrosa transitoria. Hasta que esto no se haya resuelto, los pacientes no deben conducir o manejar máquinas. **Reacciones adversas:** En un estudio clínico para la formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes, las reacciones adversas fueron coincidentes con las observadas previamente con la formulación combinada de dorzolamida/timolol con conservantes, dorzolamida hidrocloruro y/o timolol maleato. En el curso de los ensayos clínicos, 1.035 pacientes fueron tratados con la formulación combinada de dorzolamida/timolol con conservantes. Alrededor del 2,4% de todos los pacientes interrumpieron el tratamiento con este medicamento debido a reacciones adversas oculares locales, y aproximadamente el 1,2% de todos los pacientes lo interrumpieron por reacciones adversas locales que sugerían la presencia de alergia o hipersensibilidad (como inflamación del párpado y conjuntivitis). En un estudio comparativo, doble ciego, a dosis repetida, la formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes ha demostrado tener un perfil de seguridad similar a la formulación combinada de dorzolamida/timolol con conservantes. El timolol se absorbe en la circulación sistémica. Esto puede causar reacciones adversas similares a las que aparecen con agentes betablockantes sistémicos. La incidencia de reacciones adversas sistémicas después de la administración oftálmica tópica es más baja que para la administración sistémica. Las siguientes reacciones adversas han sido notificadas con la formulación de dorzolamida/timolol sin conservantes o alguno de sus componentes, bien durante ensayos clínicos o durante la experiencia postcomercialización. **Los acontecimientos adversos, según su frecuencia, como se describe a continuación: muy frecuentes ($> 1/10$), frecuentes ($> 1/100, < 1/10$), poco frecuentes ($> 1/1.000, < 1/100$ y raras ($> 1/10.000, < 1/1.000$; frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)). Clasificación de órganos del sistema (MedDRA): **Trastornos del sistema inmunológico:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Raras: signos y síntomas de reacciones alérgicas sistémicas, incluyendo angioedema, urticaria, prurito, erupción, anafilaxia. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Raras: signos y síntomas de reacciones alérgicas, incluyendo angioedema, urticaria, erupción, anafilaxia. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Frecuencia no conocida*: prurito. **Trastornos del metabolismo y de la nutrición:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Frecuencia no conocida**: hipoglucemias. **Trastornos psiquiátricos:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Poco frecuentes: depresión*. Raras: insomnio*, pesadillas*, pérdida de memoria. **Trastornos del sistema nervioso:** Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Frecuentes: cefalea*. Raras: mareos*, parestesia*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Frecuentes: cefalea*. Poco frecuentes: mareos*, sincope*. Raras: parestesia*, aumento en los síntomas y signos de miastenia gravis, disminución de la libido*, accidente cerebrovascular*, isquemia cerebral. **Trastornos oculares:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Muy frecuentes: ardor y escozo. Frecuentes: inyección conjuntival, visión borrosa, erosión corneal, prurito ocular, lagrimo. Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Frecuentes: inflamación del párpado*, irritación del párpado*. Poco frecuentes: iridociclos*. Raras: irritación con enrojecimiento*, dolor*, costras en el párpado*, miopía transitoria (que se resuelve al suspender el tratamiento), edema corneal*, hipotonía ocular*, desprendimiento coroideo (después de la cirugía de filtración)*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Frecuentes: signos y síntomas de irritación ocular, incluyendo blefaritis*, queratitis*, disminución de la sensibilidad corneal y ojos secos*. Poco frecuentes: trastornos visuales como cambios refractivos (debido al abandono del tratamiento miótico en algunos casos)*. Raras: ptosis, diplopia, desprendimiento coroideo después de la cirugía de filtración* (ver *Advertencias y precauciones especiales de empleo*). Frecuencia no conocida**: picor, lagrimo, enrojecimiento, visión borrosa, erosión corneal. **Trastornos del oído y del laberinto:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Raras: tinnitus*. **Trastornos cardíacos:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Poco frecuentes: iridociclos*. Raras: irritación con enrojecimiento*, dolor*, costras en el párpado*, miopía transitoria (que se resuelve al suspender el tratamiento), edema corneal*, hipotonía ocular*, desprendimiento coroideo (después de la cirugía de filtración)*. Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Raras: epistaxis*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Poco frecuentes: hipotensión*, claudicación, fenómeno de Raynaud*, manos y pies fríos*. **Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Frecuentes: sinusitis. Raras: respiración entrecortada, insuficiencia respiratoria, rinitis, raramente broncoespasmo. Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Raras: epistaxis*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Raras: hipotensión*, claudicación, fenómeno de Raynaud*, manos y pies fríos*. **Trastornos gastrointestinales:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Muy frecuentes: disgeusia. Formulación de dorzolamida hidrocloruro colirio en solución. Frecuentes: náuseas*. Raras: erupción cutánea*, dispepsia*. Raras: diarrea, boca seca*. Frecuencia no conocida**: disgeusia, dolor abdominal, vómitos. **Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Raras: dermatitis de contacto, síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidémica tóxica. Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Raras: erupción cutánea*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Raras: alopecia*, erupción psoriasisiforme o exacerbación de psoriasis*. Frecuencia no conocida**: erupción cutánea*. **Trastornos musculosqueléticos y del tejido conjuntivo:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Raras: lupus eritematoso sistémico. Frecuencia no conocida**: mialgia. **Trastornos renales y urinarios:** Formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. Poco frecuentes: urolitiasis. **Trastornos del aparato reproductor y de la mama:** Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Poco: enfermedad de Peyronie*, disminución de la libido. Frecuencia no conocida**: disfunción sexual. **Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración:** Formulación de dorzolamida hidrocloruro, colirio en solución. Frecuentes: astenia/fatiga*. Formulación de timolol maleato, colirio en solución. Poco frecuentes: astenia/fatiga*. "Estas reacciones adversas se observaron también con la formulación combinada de dorzolamida/timolol con conservantes durante la experiencia postcomercialización del producto." **Se han observado reacciones adversas adicionales con los betablockantes oftálmicos y pueden ocurrir potencialmente con la formulación combinada de dorzolamida/timolol sin conservantes. **Notificación de sospechas de reacciones adversas:** Es importante notificar las sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización. Esto permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos de Uso Humano: www.notificaram.es. **Sobredosis:** No existen datos disponibles en humanos acerca de la sobredosis por ingestión accidental o deliberada de la formulación combinada de dorzolamida/timolol con o sin conservantes. Síntomas: Existen informes de sobredosis inadvertida con la solución oftálmica de timolol maleato, que causaron efectos sistémicos semejantes a los observados con los agentes betablockantes betablockers sistémicos, tales como mareo, cefalea, respiración entrecortada, bradicardia, broncoespasmo y parada cardíaca. Los signos y síntomas más comunes que se pueden esperar por sobredosis con dorzolamida son desequilibrio electrolítico, desgarro de un estado ácido/ácido y, posiblemente, efectos sobre el sistema nervioso central. Solo se dispone de información limitada acerca de la sobredosis por ingestión accidental o deliberada de dorzolamida hidrocloruro en humanos. Se ha notificado somnolencia con la administración oral. Con la administración tópica se han notificado: náuseas, mareos, cefalea, fatiga, sueños anómalos y disfagia. Tratamiento: El tratamiento debe ser sintomático y de soporte. Se deben monitorizar los niveles séricos de electrolitos (particularmente el potasio) y los niveles de pH sanguíneo. Los estudios han demostrado que el timolol no se dializa fácilmente. **DATOS FARMACÉUTICOS:** **Lista de excipientes:** Hidroxietilcelulosa, manitol (E421), citrato de sodio (E331), hidróxido de sodio (E-524) (para ajustar el pH), agua para preparaciones inyectables. **Incompatibilidades:** No procede. **Período de validez:** 2 años. Tras la primera apertura del frasco: 2 meses. **Precauciones especiales de conservación:** No requiere condiciones especiales de conservación. **Naturaleza y contenido del envase:** Frasco multodosis (PEHD) de 5 ml (mínimo con 125 gotas sin conservantes) o 10 ml (mínimo con 250 gotas sin conservantes), con una bomba sin aire y un sistema de ayuda a la dispensación y un capuchón protector de seguridad. Tamaños de envases: Caja con 1 frasco de 5 ml. Caja con 1 frasco de 10 ml. Una caja con 3 frascos de 5 ml. Tres cajas con 1 frasco de 5 ml envuelto en una lámina protectora. Una caja con dos frascos de 10 ml. Dos cajas con un frasco de 10 ml envuelto en una lámina protectora. Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envases. **Precauciones especiales de eliminación:** Ninguna especial. **TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** LABORATORIOS THEA. 12, RUE LOUIS BLERIOT, 63017 CLERMONT-FERRAND CEDEX 2, FRANCIA. **FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO:** Julio 2014. **CONDICIONES DE DISPENSACIÓN:** MEDICAMENTO SUJETO A PRESCRIPCIÓN MÉDICA. Reembolsable por el Sistema Nacional de Salud. **PRESENTACIÓN Y PRECIO:** Frasco de 10 ml. **PVP IVA:** 24,23 €.**



20 MG/ML DORZOLAMIDA + 5 MG/ML TIMOLOL - COLIRIO EN SOLUCIÓN

UN NUEVO AMANECER EN LA NUTRICIÓN OCULAR

RETILUT®

Nueva fórmula con trans-resveratrol
y vitamina D



 **Thea** innovación en salud ocular

LAB-320-0117



2017 año de la
retina

Thea colabora con
2017 año de la retina