

IDENTIFICACION

Título

Español: Retinosis Pigmentaria: Causas, estrategias terapéuticas y nuevos enfoques en la terapia génica usando iPSC (células madre pluripotentes inducidas)

Ingles: Retinitis Pigmentosa: Causes, therapeutic strategies and new gene therapeutic approaches using iPSC (Induced Pluripotent Stem Cells)

Nombre y apellido del autor o los autores

1. Bernardo Esteban Quispe Bravo
2. Solange Rosa Paredes Moscosso
3. Claudio Nicolas Villegas Llerena

Código ORCID de cada autor

1. 0000-0002-9361-7709
2. 0000-0001-8461-2546
3. 0000-0002-2634-5504

Correo electrónico de cada autor

1. bquispeb@usmp.pe
2. sparedesm@usmp.pe
3. cvillegasl1@usmp.pe

Afiliación institucional de los autores

1. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Instituto de Investigación, Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular, Lima, Perú.
2. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Instituto de Investigación, Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular, Lima, Perú.
3. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Instituto de Investigación, Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular, Lima, Perú.

Dirección postal

Universidad de San Martin de Porres, Facultad de medicina Humana
Av. Alameda del Corregidor 1517-1531, Urb. Sirius – III Etapa – La Molina, Lima 15024
Lima , Perú

Resumen (español)

Las enfermedades genéticas son consideradas raras o huérfanas cuando afectan a un muy pequeño porcentaje de la población, usualmente con una prevalencia igual o menor a 5×10^{-4} en la población. La Retinitis pigmentosa (RP) es una enfermedad retinal degenerativa, hereditaria que causa la pérdida gradual de la visión debido a la degeneración/distrofia de conos y bastones. RP es considerada una enfermedad rara con una prevalencia de 3.33×10^{-4} . Estudios en RP han reportado que existen más de 150 genes asociados a esta enfermedad, sin embargo, muchos de los casos tienen un origen monogénico.

Actualmente, la diferenciación de células retinales – en cultivos 2D o 3D – a partir de células iPSC (células madre pluripotentes inducidas) humanas se presenta como una alternativa terapéutica interesante para el tratamiento de RP, donde ya se han obtenido resultados positivos en modelos in vitro e in vivo. Su uso combinado con tecnología modernas de edición génica, como el sistema CRISPR promete ampliar aún más su potencial terapéutico. En consecuencia, actualmente existen ensayos clínicos en fase IV para RP donde se vienen empleando trasplantes autólogos de iPSC genéticamente corregidas y diferenciadas en linajes retinales. El presente comentario, es una breve reseña de los principales descubrimientos y hallazgos que han contribuido al desarrollo de estrategias terapéuticas enfocadas en RP y basadas en el uso de iPSC, así como en combinación con la tecnología CRISPR/Cas9.

Resumen (inglés)

Genetic diseases are considered rare disease when they affect a very small percentage of the population, usually with a prevalence equal to or less than 5.0×10^{-4} in the population. Retinitis pigmentosa (RP) is a hereditary, degenerative retinal disease that causes gradual loss of vision due to degeneration/dystrophy of rod and cone cells. RP is considered a rare disease with a prevalence of 3.33×10^{-4} . Studies in RP have reported that there are more than 150 genes associated with this disease, however, many of the cases have a monogenic origin.

Currently, the differentiation of retinal cells – in 2D or 3D cultures – from human iPSC cells (induced pluripotent stem cells) presents itself as an interesting therapeutic alternative for the treatment of RP, where positive results have already been obtained in in vitro models and in vivo. Its use combined with modern gene editing technologies such as the CRISPR system, promises to further expand its therapeutic potential. Currently, there are some phase IV clinical trials for RP using autologous iPSC transplants of genetically corrected and differentiated retinal cells. This is a brief review of the main discoveries and findings that have contributed to the development of novel therapeutic strategies focused on RP and based on iPSC, as well as in combination with CRISPR/Cas9 technology.

Palabras clave

Español: Retinosis pigmentaria, iPSC, terapia génica, enfermedad rara

Inglés: Retinitis pigmentosa, iPSC, gene therapy, rare disease

Información sobre la contribución

BEQB: Escritura - Preparación del borrador original,

SRPM: Redacción-revisión y edición

CNVLL: Conceptualización, Redacción-revisión y edición

Información sobre conflicto de intereses

Los autores no declaran ningún conflicto de interés.

Fuente de financiamiento

El estudio fue financiado por PROCENCIA (a través del contrato N°153-2018-FONDECYT-BM-IADT-MU) y la Universidad de San Martín de Porres.

Agradecimientos

Ninguno

Sobre ética en investigación y normas legales

Los autores declaran que no violaron ni omitieron normas éticas o legales en esta investigación.

EL CUERPO DEL TRABAJO (COMENTARIO)

Introducción

Orphanet es un consorcio encargado de mantener actualizado el *status* de las enfermedades raras (aquellas que afectan a 1 de cada 2000 personas) siendo éstas del tipo genéticas, autoinmunes o cánceres raros. No hay tratamiento definitivo para la mayoría de estas enfermedades, pero existen tratamientos paliativos adecuados que pueden mejorar la calidad y esperanza de vida de los afectados (Ana Rath, Stéphanie NGUENGANG WAKAP 2020). La Retinosis Pigmentaria (RP) es una enfermedad retinal rara hereditaria, de la cual se conoce que hay más de 150 genes reportados que están asociados a ella. RP produce una pérdida progresiva de la vista debido a la degeneración/distrofia de conos y bastones (Diakatou et al. 2019; DisGeNet 2022). Se debe tener en cuenta que el ojo es el órgano más importante para recopilar información sobre nuestro entorno y su pérdida puede ser devastadora (Maeda et al. 2019). Actualmente, existen algunos tratamientos aprobados para sub-tipos específicos de esta enfermedad (Trucker et al, 2022). Asimismo, hay varios grupos de investigación que vienen realizando estudios en modelos *in vitro* e *in vivo*, así como ensayos clínicos usando diferentes técnicas que abarcan la reprogramación celular, generación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC, y edición génica usando la herramienta CRISPR/Cas9 (Deng et al. 2018; Yanai et al. 2019; Schaub et al. 2020).

En este trabajo se presentará una breve revisión de la literatura acerca de la retinosis pigmentaria como enfermedad rara, se describirán algunas características clínicas y moleculares de esta condición, así como las distintas estrategias terapéuticas disponibles actualmente. Se hablará también del uso de modelos celulares para el estudio de esta enfermedad y se mencionará el caso particular de una cohorte peruana con retinosis pigmentaria, así como los avances que se han hecho para su tratamiento en el Perú. Finalmente, se mencionarán las conclusiones y perspectivas futuras en el tratamiento de la retinosis pigmentaria.

1. Enfermedades raras: Retinales

Las enfermedades raras retinales se dividen en enfermedades hereditarias (entre ellas, la retinitis pigmentosa) y no adquiridas (por ejemplo, la degeneración macular relacionada con la edad). Se conocen 53 enfermedades oftalmológicas raras y 103 enfermedades asociadas. Se estima que las enfermedades relacionadas a la distrofia de conos y bastones tienen una incidencia de 1 por cada 40 000 habitantes (Sburlan et al. 2019; Ana Rath, Stéphanie NGUENGANG WAKAP 2020). En el Perú, en el año 2011 mediante la ley N°29698, se declaró de interés nacional la atención y el tratamiento de personas que padecen enfermedades raras o huérfanas. Además en el 2019, se aprobó mediante Resolución Ministerial N° 1075-219 el documento técnico para considerar mediante un listado las enfermedades raras o huérfanas (REPÚBLICA 2011; Salud 2019). Se considera que este es un paso importante en el manejo de este tipo de enfermedades, de las cuales, el 95% carecen de un tratamiento aprobado por la FDA (Food Drug Administration) de los EE.UU. (Sburlan et al. 2019).

2. Retinosis pigmentaria: Incidencia, causas y características

A nivel mundial, la retinosis pigmentaria (o retinitis pigmentosa) tiene una incidencia de 26 por cada 100 mil habitantes, lo que es equivalente a aproximadamente 1 en 4 000 individuos (Diakatou et al. 2019; Ana Rath, Stéphanie NGUENGANG WAKAP 2020). Los patrones de herencia sugieren que aproximadamente el 65% de los casos son no sindrómicos (20% dominantes autosomales, 13% autosomales recesivos, 8% ligados al gen X y 24% desconocidos), 17% sindrómicos (12% síndrome de Usher y 5% Síndrome de Barbet Biedl), 10% sistémicos y 8% son de origen desconocido (Campochiaro and Mir 2018). La retinosis pigmentaria es causada por mutaciones en los genes regulador de la retinitis pigmentosa GTPasa (*RPGR*), Fosfodiesterasa 6A (*PDE6A*), Fosfodiesterasa 6B (*PDE6B*), Protooncogen MER tirosina quinasa (*MERTK*), factor de procesamiento pre-mRNA 31 (*PRPF31*), entre otros (de la Cerda et al. 2019; Maeda et al. 2019).

La retinosis pigmentaria tiene 2 características principales: a) el deterioro del campo visual y b) la degeneración de fotorreceptores; tanto de los bastones que permiten la visión nocturna,

como de los conos que son responsables de la visión nítida y a color (Hartong et al. 2006; Maeda et al. 2019). El mecanismo de muerte celular de los bastones depende del gen mutado y de su tasa de degeneración. La degeneración celular de los bastones reduce el consumo de oxígeno en el tejido retinal; consecuentemente, el aumento de los niveles de oxígeno genera a su vez la muerte celular de los conos por radicales libres de superóxido (ROS) (Campochiaro and Mir 2018). Esto se produce por desajustes en la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias y por la estimulación de la actividad de la enzima NADPH oxidasa en el citoplasma (Campochiaro and Mir 2018). El sistema de defensa antioxidante es superado por los altos niveles de ROS y generan más especies reactivas como el peroxinitrito (dañino y difícil de procesar), dañando progresivamente -por oxidación- a los conos. Esto finalmente contribuye a la muerte celular de la retina por moléculas ROS que son transferidas a los tejidos adyacentes (Campochiaro and Mir 2018).

3. Estrategias terapéuticas en enfermedades raras retinales

a. Terapia enzimática

El enfoque terapéutico para reducir los niveles de estrés oxidativo se realiza aumentando los niveles de superóxido dismutasa con una enzima desintoxicante de peróxido. Esto promueve la supervivencia y funcionamiento de los conos (DONG et al. 2006), así mismo, la N-acetilcisteína (NAC) reduce la muerte y favorece el normal funcionamiento celular de dichas células (Lee et al. 2011).

b. Transferencia génica

Esta estrategia busca aumentar el sistema de defensa antioxidante a través de la estimulación de una mayor expresión de genes como el factor nuclear (NRF2) (Xiong et al. 2015) y/o el factor de viabilidad del cono derivado de bastones (RDCVF) (Byrne et al. 2015). Ambos genes tienen actividad antioxidante y son capaces de reducir la muerte celular de los conos, sin embargo, estos tratamientos son de larga duración y pueden generar radicales de oxígeno, que a su vez pueden interferir con la señalización celular u otras funciones (Campochiaro and Mir 2018).

c. Terapia celular

El desarrollo y obtención de células madre pluripotentes inducidas (induced pluripotent stem cells o iPSC) por Yamanaka y colaboradores en el 2006 (Yamanaka 2012), permite reprogramar células somáticas y diferenciarlas en virtualmente cualquier tipo celular deseado, incluyendo células retinales.

Hoy en día, las plataformas celulares iPSC (células indiferencias) son importantes porque facilitan la edición *ex vivo* del genoma del paciente, mediante la tecnología CRISPR/Cas9 (modificando secuencias nucleotídicas para corregir mutaciones patogénicas). Asimismo, el uso de CRISPR/Cas9 ha revolucionado la velocidad y el alcance con el que los científicos pueden modificar el ADN de las células vivas teniendo un gran potencial para tratar

enfermedades de la retina eliminando genes mutados y/o corrigiendo secuencias patogénicas (Maeda et al. 2019).

Cabe señalar que la terapia celular en retinopatías, en general, y retinosis pigmentaria, en particular, puede realizarse con células madre embrionarias (human embryonic stem cells, hESC) o células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC). A continuación, se mencionan las ventajas y desventajas de ambas estrategias.

4. hESC vs hiPSC: Ventajas y desventajas de su uso en modelos retinales

a. hESC: Definición y uso en modelos retinales

El término hESC fue utilizado por primera vez por Thomson et al. (Thomson 1998) quien creó la primera línea celular humana de células madre embrionarias derivadas de blastocitos humanos. Sin embargo, la obtención de líneas celulares de ESC es un procedimiento complejo de realizar, además, en algunos casos el trasplante de dichas células puede producir rechazo (Pappas and Yang 2008).

Las hESC y hiPSC son modelos celulares que permiten investigar mecanismos moleculares, alteraciones patológicas y realizar ensayos farmacológicos para pacientes afectados por diferentes enfermedades (Sonal et al. 2019). Las células estudiadas son extraídas del mismo paciente, a través de cultivos celulares primarios. Esta acción es muy recomendada debido a que garantiza la prevención de contagio de enfermedades entre pacientes, la comprensión de la relación genotipo/fenotipo y el enfoque terapéutico (Pappas and Yang 2008).

b. hiPSC: Definición y uso en modelos retinales

Desde que Yamanaka et al. (2006) describieron por primera vez que los fibroblastos de ratones adultos podían ser reprogramados en células madre, se han realizado muchas investigaciones sobre la integridad, la tumorigenicidad y aplicaciones terapéuticas de esta tecnología (Yamanaka 2012). Una vez obtenidas las células iPSC, pueden ser diferenciadas en cualquier tipo celular que se desee (Poorna et al, 2021). Las iPSC diferenciadas a epitelio

pigmentario retinal (RPE) han dado como resultado los primeros ensayos clínicos en el campo ocular, y los resultados se esperan con mucho interés.

Las iPSC diferenciadas en células retinales con ayuda de factores de inducción pueden formar organoides retinales. Los organoides son un cúmulo de células que crecen y se aglomeran de forma tridimensional. Además, los organoides tienen estructuras muy similares a sus pares originales, en términos de estructura celular e interacciones célula-célula.

c. hESC vs hiPSC:

Una vez que se realiza la comparación entre ambos modelos celulares pluripotenciales, la plataforma iPSC parece llevar la ventaja debido a que posee: a) una mayor fuente de extracción (sangre, orina y piel), b) una mayor eficiencia de reprogramación a células madre, c) una composición genética estable que permite la edición genómica (Pappas and Yang 2008; Yamanaka 2012).

Sin embargo, la reprogramación de cualquier célula somática (generalmente fibroblastos de piel) a hiPSC requiere tomar en cuenta ciertos factores como: a) una óptima estequiometría de los factores de transcripción de Yamanaka, ya que diversos estudios obtienen iPSC a distintas concentraciones de factores de transcripción, esto debido probablemente a la procedencia del tipo celular (fibroblastos de sangre, orina o piel), b) estados epigenéticos (metilación/desacetilación del ADN e histonas), c) senescencia y d) vías de señalización (Haridhasapavalan et al. 2020). No obstante, algunos autores consideran que la estequiometría de los factores de transcripción es el factor más importante para la reprogramación. Asimismo, es trascendental trabajar con muestras de pacientes jóvenes; de lo contrario, se corre el riesgo de utilizar muestras que posean una baja producción de telomerasa, pudiendo dañar el material genético de la célula, produciendo mutaciones y una ineficiente/nula producción de iPSC. Esto nos lleva a pensar que todos los voluntarios sanos/enfermos pueden tener sus propias células iPSC siempre que cumplan los requisitos previamente descritos.

Una vez realizada la reprogramación, es necesario comprobar que la línea hiPSC obtenida está indiferenciada, para lo cual se debe evidenciar la expresión de genes como *PAX-6*, *SOX 17*, *TRA-1*, *SSEA 4*, *FGF 4*, *REX 1*, *GDF3*, *DPPA2*, *GAPDH*, *TERT*, *NANOG*, *SOX2* y *OCT4* (Artero Castro et al. 2019). Una vez comprobada la pluripotencialidad de las células, estas pueden ser diferenciadas en células retinales y organoides con la finalidad de estudiar los mecanismos moleculares de la enfermedad y/o probar posibles estrategias terapéuticas.

En estos últimos años, el uso de células iPSC para el estudio de enfermedades retinales ha tomado un mayor empuje debido a que se vienen generando una gran cantidad de líneas hiPSC provenientes de voluntarios sanos y pacientes afectados por distintas patologías retinales, incluyendo retinosis pigmentaria. Recientemente, De la Cerda et al. (2019) reportaron el caso de un paciente afectado por RP, con un tipo de herencia autosómica dominante, quien poseía una mutación heterocigota en el sitio c.165G>A del gen *PRPF31*. Para estudiar mejor el mecanismo molecular de la degeneración progresiva vista en este paciente, se decidió reprogramar sus células a iPSC, utilizando un vector no integrativo (virus Sendai) para la transducción de los factores de reprogramación (hOCT3/4, hSOX2, hc-MYC2 y KLF4) (de la Cerda et al. 2019). De forma similar, Artero-Castro et al. (2019) generaron una línea iPSC con el fin de estudiar la variante c.992_993del en el gen *MERTK* a partir de fibroblastos de un paciente portador (Artero-Castro et al. 2019). Asimismo, la reprogramación celular de células adultas a iPSC viene permitiendo el descubrimiento de nuevos genes involucrados en la patogénesis de la retinitis pigmentosa, como es el caso del gen *RS1* (gen ligado al cromosoma X), según lo reportado por (Mao et al. 2020).

5. Organoides como modelos celulares para el estudio de la retinosis pigmentaria

Los organoides representan una nueva plataforma de cultivo celular tridimensional con estructuras celulares que recapitulan los procesos de desarrollo observados *in vivo* en un entorno *in vitro* (Sharma et al. 2020). Se ha demostrado que la diferenciación de las líneas iPSC suplementadas con factores de inducción como ácido retinoico (RA), 9-cis-retinal, 11-

cis-retinal, levodopa (L-DOPA), triyodotironina (T3) y el inhibidor de la γ -secretasa ((2S) -N - [(3,5-Difluorofenil) acetil] -l-alanil-2-fenil] glicina1,1-dimetiletil éster 2L) [DAPT] (Zerti et al. 2020) pueden dar origen a organoides retinales. El desarrollo de organoides retinales ha permitido la obtención y caracterización de células amacrinas, ganglionares, Müller Glías, conos y bastones; estas últimas presentaron una sinapsis con las células bipolares y horizontales (células nerviosas de segundo orden) dentro de la capa plexiforme externa (Zerti et al. 2020), demostrando una similitud funcional con tejido retinal *in vivo*. Además, Cui et al. (2020) demostraron que el desarrollo de organoides retinales de humano en cultivo celular es más lento que el desarrollo de una retina humana durante el embarazo, sin embargo se evidenció que dicho desarrollo comprendía las mismas estructuras y funciones que el órgano natural (Cui et al. 2020). Al mismo tiempo, los organoides retinales permiten aislar y analizar estructuras específicas de la retina, como por ejemplo las células Müller glía (EASTLAKE et al. 2019), muy importantes para estudios terapéuticos de glaucoma. Por último, los procesos como el metabolismo de ácidos grasos, expresión de genes relacionados con las mitocondrias, procesos catabólicos de glucógeno y los receptores de activina se regulan gradualmente en los organoides retinianos humanos, tal y como sucede en el tejido original (Cui et al. 2020).

Los organoides son una plataforma muy versátil que permite: a) modelar enfermedades específicas de los pacientes y b) detectar la toxicidad/respuesta farmacológica específica del paciente (Sharma et al. 2020). Asimismo, los organoides permiten realizar ensayos terapéuticos más especializados y así comprender mejor los mecanismos patogénicos. Finalmente, los organoides son estructuras biológicas muy complejas que en un futuro podrían reemplazar a los ensayos en animales.

6. Terapia génica para Retinosis pigmentaria

El advenimiento del sistema CRISPR/Cas para la edición génica en organismos vivos nos presenta con la oportunidad de “cortar” el genoma de manera específica para luego reemplazar/modificar/corregir secuencias defectuosas causantes de diferentes patologías por

secuencias funcionales. Esta herramienta presenta muchas ventajas con respecto a otras herramientas de edición génica, siendo igual o superior en cuanto a su precisión, costo y facilidad de uso (Prado et al. 2020; Peddle et al. 2017).

Adicionalmente, el sistema CRISPR/Cas es capaz de modificar genéticamente células *in vivo* y en células que no se encuentran en división celular (Meng et al. 2020). El éxito visto en diversos estudios *in vitro* e *in vivo*, ha promovido el desarrollo de diversas terapias experimentales destinadas que curar/tratar una gama amplia de patologías retinales (Piri et al. 2021). Por ejemplo, Editas Medicine (compañía especializada en edición genética y con base en EE.UU.) recientemente ha iniciado un ensayo clínico “randomizado” en Fase I/II en pacientes afectados por LCA10 (Amaurosis congénita de Leber 10), ocasionada por mutaciones en el gen CEP290 (Piri et al. 2021).

En un estudio reciente, Gumerson et al. (2022) utilizaron la técnica CRISPR/Cas9 para restaurar la correcta expresión del exón OFR15, en modelos murinos *in vivo*. Utilizando este enfoque, los autores lograron restaurar la expresión del exón OFR15 en un sub-set de células con amplia distribución en la retina. Estos resultados, sugieran que sería posible que el sistema CRISPR/Cas es capaz de restaurar la expresión del exón OFR15, y consecuentemente la función del gen RPGR *in vivo* (Gumerson et al. (2022).

7. Retinosis pigmentaria en el Perú: Reporte del caso multifamiliar de Parán e implementación de una plataforma molecular para terapia génica

En el Perú, se ha reportado una cohorte de pacientes afectados por RP en la comunidad de Parán (Lima). Los pacientes afectados poseen una delección de 11 pares de bases (pb) en el gen *RPGR* (OMIM: #312610, RefSeq: NG_009553.1) (Guio et al. 2018). El caso multifamiliar de Parán, como se le conoce, fue detectado hace más de 10 años por nuestro Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular de la Universidad de San Martín de Porres (Lima, Perú). Recientemente, nuestro centro de investigación ha comenzado la implementación de una plataforma molecular para terapia génica, la cual tiene como modelo inicial de estudio este caso multifamiliar. Dicha plataforma, busca generar células iPSC a

partir de fibroblastos de pacientes afectados provenientes de la comunidad de Parán y pacientes sanos no portadores de la mutación. Seguidamente, se plantea la estandarización de protocolos de diferenciación celular que permitan obtener células del epitelio retinal pigmentado (células RPE por sus siglas en inglés), no sin antes editarlas genéticamente para revertir la mutación patogénica usando la herramienta de edición génica CRISPR/Cas9. La implementación de la mencionada plataforma permitirá obtener células RPE modificadas genéticamente y libres de la mutación patogénica que aqueja al caso multifamiliar. Finalmente, esta plataforma servirá como base para la implementación de futuras terapias que combinen edición génica y uso de células iPSC en nuestro país.

8. Conclusión

Las enfermedades raras o huérfanas afectan tan solo a un pequeño porcentaje de la población, razón por la cual son poco estudiadas y como resultado, muchas de ellas carecen de tratamientos o curas efectivas. La Retinitis pigmentosa (RP) es una de estas enfermedades y actualmente carece de una cura o tratamiento efectivos.

Los avances recientes en terapia génica han vislumbrar la llegada de enfoques terapéuticos que permitan cambiar el curso de RP en pacientes afectados. La generación de células iPSC se presenta en este respecto, como una alternativa terapéutica viable para terapia de reemplazo celular, ya que permite la obtención de células retinales diferenciadas. Más aun, si utiliza en combinación con novedosas técnicas de edición génica como el CRISPR/Cas9, que permitan revertir los insultos genéticos causantes de las diferentes patologías retinales antes de trasplantar las células derivadas en los mismos pacientes afectados que sirvieron como donadores para el desarrollo de las iPSC.

Estas estrategias de terapia génica buscan ser simples en su ejecución, además de no necesitar repetirse. Los desarrolladores de estas terapias deben tener en cuenta que estas no deben representar una carga financiera desmesurada ni para los pacientes, ni para los sistemas de salud que las adopten.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Ana Rath, Stéphanie NGUENGANG WAKAP SD y VL. 2020. Prevalencia de las enfermedades raras : Datos bibliográficos Enfermedades listadas por orden de prevalencia o incidencia decreciente o por número de casos publicados. *Inf Periódicos Orphanet*. Marzo:1–69.
http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/ES/Prevalencia_de_las_enfermedades_raras_por_prevalencia_decreciente_o_casos.pdf.
- Artero-Castro A, Popelka S, Jendelova P, Motlik J, Ardan T, Rodriguez Jimenez FJ, Erceg S. 2019. The identification of small molecules that stimulate retinal pigment epithelial cells: potential novel therapeutic options for treating retinopathies. *Expert Opin Drug Discov*. 14(2):169–177. doi:10.1080/17460441.2019.1559148.
<https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1559148>.
- Artero Castro A, Long K, Bassett A, Machuca C, León M, Ávila-Fernandez A, Cortón M, Vidal-Puig T, Ayuso C, Lukovic D, et al. 2019. Generation of gene-corrected human induced pluripotent stem cell lines derived from retinitis pigmentosa patient with Ser331Cysfs*5 mutation in MERTK. *Stem Cell Res*. 34(November 2018):101341. doi:10.1016/j.scr.2018.11.003. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.11.003>.
- Byrne LC, Dalkara D, Luna G, Fisher SK, Clérin E, Sahel JA, Léveillard T, Flannery JG. 2015. Viral-mediated RdCVF and RdCVFL expression protects cone and rod photoreceptors in retinal degeneration. *J Clin Invest*. 125(1):105–116. doi:10.1172/JCI65654. <https://www.jci.org/articles/view/65654>.
- Campochiaro PA, Mir TA. 2018. The mechanism of cone cell death in Retinitis Pigmentosa. *Prog Retin Eye Res*. 62:24–37. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.08.004. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.08.004>.
- Cui Z, Guo Y, Zhou Y, Mao S, Yan X, Zeng Y, Ding C, Chan HF, Tang S, Tang L, et al. 2020. Transcriptomic Analysis of the Developmental Similarities and Differences Between the Native Retina and Retinal Organoids. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 61(3):6. doi:10.1167/iovs.61.3.6.
- Deng WL, Gao ML, Lei XL, Lv JN, Zhao H, He KW, Xia XX, Li LY, Chen YC, Li YP, et al. 2018. Gene Correction Reverses Ciliopathy and Photoreceptor Loss in iPSC-Derived Retinal Organoids from Retinitis Pigmentosa Patients. *Stem Cell Reports*. 10(4):1267–1281. doi:10.1016/j.stemcr.2018.02.003. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.02.003>.
- Diakatou M, Manes G, Bocquet B, Meunier I, Kalatzis V. 2019. Genome editing as a treatment for the most prevalent causative genes of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Int J Mol Sci*. 20(10):1–22. doi:10.3390/ijms20102542.
- DisGeNet <https://www.disgenet.org/home/>
- DONG A, SHEN J, KRAUSE M, AKIYAMA H, HACKETT SF, LAI H, CAMPOCHIARO PA. 2006. Superoxide Dismutase 1 Protects Retinal Cell From Oxidative Damage. *J Cell Physiol*. 208:516–526. doi:<https://doi.org/10.1002/jcp.20683>. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.20683?casa_token=p8Vo8K0UO4MAAAA%3A3m7VvWBeF16prxHpqUQTkoeT5as4FVpvcvDT82f7LQQPeoi42CEYxQQVCOIRuU1gWliZjV1Yu-ND5RDZvQ.
- EASTLAKE K, WANG W, JAYARAM H, MURRAY-DUNNING C, CARR AJF, RAMSDEN CM, VUGLER A, GORE K, CLEMO N, STEWART M, et al. 2019. Phenotypic and Functional Characterization of Müller Glia Isolated from Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Organoids: Improvement of Retinal Ganglion Cell Function upon Transplantation. *Stem Cells Transl Med*. 8:775–784. doi:10.1002/sctm.18-0263.

Gonzalez-Cordero A, Kruczek K, Naeem A, Fernando M, Kloc M, Ribeiro J, Goh D, Duran Y, Blackford SJI, Abelleira-Hervas L, et al. 2017. Recapitulation of Human Retinal Development from Human Pluripotent Stem Cells Generates Transplantable Populations of Cone Photoreceptors. *Stem Cell Reports*. 9(3):820–837. doi:10.1016/j.stemcr.2017.07.022.

Guio H, Poterico JA, Levano KS, Cornejo-Olivas M, Mazzetti P, Manassero-Morales G, Ugarte-Gil MF, Acevedo-Vásquez E, Dueñas-Roque M, Piscocoya A, et al. 2018. Genetics and genomics in Peru: Clinical and research perspective. *Mol Genet Genomic Med*. 6(6):873–886. doi:10.1002/mgg3.533.

Gumerson JD, Alsufyani A, Yu W, Lei J, Sun X, Dong L, Wu Z, Li T. 2022. Restoration of RPGR expression in vivo using CRISPR/Cas9 gene editing. *Gene Ther*. 29(1–2):81–93. doi:10.1038/s41434-021-00258-6.

Haridhasapavalan KK, Raina K, Dey C, Adhikari P, Thummer RP. 2020. An Insight into Reprogramming Barriers to iPSC Generation. *Stem Cell Rev Reports*. 16(1):56–81. doi:10.1007/s12015-019-09931-1.

Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. 2006. Retinitis pigmentosa. *Lancet*. 368:1795–1809. https://ac.els-cdn.com/S0140673606697407/1-s2.0-S0140673606697407-main.pdf?_tid=26be6064-c3a4-11e7-b6bd-00000aacb35f&acdnat=1510049725_a881580f76b9dcb337a82cbae60ae14.

Kim S, Lowe A, Dharmat R, Lee S, Owen LA, Wang J, Shakoor A, Li Y, Morgan DJ, Hejazi AA, et al. 2019. Generation, transcriptome profiling, and functional validation of cone-rich human retinal organoids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 166(22):10824–10833. doi:10.1073/pnas.1901572116.

de la Cerda B, Díez-Lloret A, Ponte B, Vallés-Saiz L, Calado SM, Rodríguez-Bocanegra E, Garcia-Delgado AB, Moya-Molina M, Bhattacharya SS, Díaz-Corrales FJ. 2019. Generation and characterization of the human iPSC line CABI001-A from a patient with retinitis pigmentosa caused by a novel mutation in PRPF31 gene. *Stem Cell Res*. 36(March):29–32. doi:10.1016/j.scr.2019.101426.

Lee SY, Usui S, Zafar A bakr, Oveson BC, Jo YJ, Lu L, Masoudi S, Campochiaro PA. 2011. N-acetylcysteine promotes long-term survival of cones in a model of retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol*. 226(7):1843–1849. doi:https://doi.org/10.1002/jcp.22508. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.22508?casa_token=fciD6GJz4UsAAAAA%3A5b3ixl9LQuH9o4SabAsEORIXehDEZx1S7kuFP_H6N75-EVjl8IA5Yry0jzWZiqBxtEqkr3AG9YLoPgAvqA.

Maeda A, Mandai M, Takahashi M. 2019. Gene and Induced Pluripotent Stem Cell Therapy for Retinal Diseases. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 20(1):201–216. doi:10.1146/annurev-genom-083118-015043.

Mao S, Ding C, Zhou Y, Jing Y, Chen Juan, Guo Y, Liu J, Cui Z, Yan X, Gu J, et al. 2020. Establishment of a human induced pluripotent stem cell line (CSUASOi005-A), from peripheral blood mononuclear cells of a patient with X-linked juvenile retinoschisis carrying a novel mutation in RS1 gene. *Stem Cell Res*. 43(December 2019):101718. doi:10.1016/j.scr.2020.101718. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.101718>.

Meng D, Ragi SD, Tsang SH. 2020. Therapy in Rhodopsin-Mediated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Mol Ther*. 28(10):2139–2149. doi:10.1016/j.ymthe.2020.08.012. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.08.012>.

Pappas JJ, Yang PC. 2008. Human ESC vs. iPSC-pros and cons. *J Cardiovasc Transl Res*. 1(2):96–99. doi:10.1007/s12265-008-9032-2.

Peddle CF, Maclaren RE. 2017. The application of CRISPR/CAS9 for the treatment of retinal diseases.

Yale J Biol Med. 90(4):533–541.

Piri* N, Grodsky JD, Kaplan HJ. 2021. Gene therapy for retinitis pigmentosa. *Taiwan J Ophthalmol.* 11:348–351. doi:10.4103/tjo.tjo_47_21.

Plaza Reyes A, Petrus-Reurer S, Padrell Sánchez S, Kumar P, Douagi I, Bartuma H, Aronsson M, Westman S, Lardner E, André H, et al. 2020. Identification of cell surface markers and establishment of monolayer differentiation to retinal pigment epithelial cells. *Nat Commun.* 11(1):1–15. doi:10.1038/s41467-020-15326-5.

Poorna, M. R., Jayakumar, R., Chen, J. P., & Mony, U. (2021). Hydrogels: A potential platform for induced pluripotent stem cell culture and differentiation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 207, 111991.

Prado DA, Acosta-Acero M, Maldonado RS. 2020. Gene therapy beyond luxturna: A new horizon of the treatment for inherited retinal disease. *Curr Opin Ophthalmol.* 31(3):147–154. doi:10.1097/ICU.0000000000000660.

REPÚBLICA CD LA. 2011. LEY QUE DECLARA DE INTERÉS NACIONAL Y PREFERENTE ATENCIÓN EL TRATAMIENTO DE PERSONAS QUE PADECEN ENFERMEDADES RARAS O HUÉRFANAS. :1. [accessed 2020 May 4]. <http://www.minsa.gob.pe/erh/normas.html>.

Salud M de. 2019. Estatus de las enfermedades raras RESOLUCIÓN MINISTERIAL_2019.pdf. :1–23. [accessed 2020 May 4]. <http://www.minsa.gob.pe/erh/normas.html>.

Sburlan EA, Voinea L-M, Alexandrescu C, Istrate S, Iancu R, Pirvulescu R, Geamanu A, Ghita M, Ungureanu E, Radu C. 2019. Rare ophthalmology diseases. *Rom J Ophthalmol.* 63(1):10–14. doi:10.22336/rjo.2019.3.

Schaub NJ, Hotaling NA, Manescu P, Padi S, Wan Q, Sharma R, George A, Chalfoun J, Simon M, Ouladi M, et al. 2020. Deep learning predicts function of live retinal pigment epithelium from quantitative microscopy. *J Clin Invest.* 130(2):1010–1023. doi:10.1172/JCI131187.

Sharma A, Sances S, Workman MJ, Svendsen CN. 2020. Multi-lineage Human iPSC-Derived Platforms for Disease Modeling and Drug Discovery. *Cell Stem Cell.* 26(3):309–329. doi:10.1016/j.stem.2020.02.011. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.02.011>.

Sonal D, Galloway CA, Singh R. 2019. Pluripotent Stem Cells to Model Degenerative Retinal Diseases: The RPE Perspective. Springer. Avior Y, Sagi I, Benvenisty N, editors. Springer, Cham. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2015.27>.

Thomson JA. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science (80-).* 282(5391):1145–1147. doi:10.1126/science.282.5391.1145.

Tucker, B. A., Burnight, E. R., Cranston, C. M., Ulferts, M. J., Luse, M. A., Westfall, T., ... & Stone, E. M. (2022). Development and biological characterization of a clinical gene transfer vector for the treatment of MAK-associated retinitis pigmentosa. *Gene therapy*, 29(5), 259-288.

Xiong W, Garfinkel AEMC, Li Y, Benowitz LI, Cepko CL. 2015. NRF2 promotes neuronal survival in neurodegeneration and acute nerve damage. *J Clin Invest.* 125(4):1433–1445. doi:10.1172/JCI79735. <https://www.jci.org/articles/view/79735>.

Yamanaka S. 2012. Induced pluripotent stem cells: Past, present, and future. *Cell Stem Cell.* 10(6):678–684. doi:10.1016/j.stem.2012.05.005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2012.05.005>.

Yanai A, McNab P, Gregory-Evans K. 2019. Retinal therapy with induced pluripotent stem cells; leading the way to human clinical trials. *Expert Rev Ophthalmol.* 14(1):53–59. doi:10.1080/17469899.2019.1568872. <https://doi.org/10.1080/17469899.2019.1568872>.

Zerti D, Dorgau B, Felemban M, Ghareeb AE, Yu M, Ding Y, Krasnogor N, Lako M. 2020. Developing a simple method to enhance the generation of cone and rod photoreceptors in pluripotent stem cell-derived retinal organoids. *Stem Cells.* 38(1):45–51. doi:10.1002/stem.3082.