



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS Y ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL RETINIANA
DE RETINOSIS PIGMENTARIA LIGADA A X CAUSADA POR
VARIANTES PATOGÉNICAS EN RPGR-ORF15
TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA

RODRIGO MATSUI SERRANO

TUTOR:

JUAN CARLOS ZENTENO RUIZ

INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA "FUNDACIÓN CONDE DE
VALENCIANA" I.A.P.

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

Presentación

Resumen Estructurado

1.- Introducción

2.- Protocolo de Investigación

- 2.1 Pregunta de investigación
- 2.2 Justificación
- 2.3 Hipótesis
- 2.4 Objetivos Generales
- 2.5 Objetivos Específicos
- 2.6 Diseño del Estudio

3.- Materiales y métodos

- 3.1 Población
- 3.2 Lugar de estudio
- 3.3 Duración del estudio
- 3.4 Criterios de Selección

4.- Análisis Estadístico

- 4.1 Variables del estudio

5.- Resultados

6.- Conclusiones

7.- Bibliografía.

PRESENTACIÓN

a. Título

Caracterización Estructural y Funcional de Retinosis Pigmentaria ligada a X asociada a Mutaciones en RPGR-ORF15

b. Investigador Responsable, investigadores asociados o participantes y departamentos y/o instituciones participantes.

Investigador Responsable: Dr. Rodrigo Matsui Serrano

Tutor de Tesis: Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz

Departamentos participantes: Departamento de Retina y Departamento de Genética del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana.

c. Fecha de inicio y de finalización de la investigación

Inicio: 2016

Finalización: 2021

1.- INTRODUCCIÓN

1.1 Anatomía y función celular de la retina

La retina es una estructura delicada compuesta por células bien diferenciadas cuya función primordial es la fototransducción y transmisión de señales eléctricas del globo ocular hacia el sistema nervioso central.¹ La fototransducción es el proceso por el cual la energía luminosa en forma de fotones es convertida en energía eléctrica para de esta forma ser transmitida hacia la corteza occipital originando la percepción del estímulo.¹

Las células encargadas de llevar a cabo el proceso de fototransducción son los fotorreceptores de la retina, conos y bastones, los cuales se encuentran distribuidos en diferentes concentraciones a través de todo el tejido.²

La retina central a nivel de la foveola está compuesta únicamente por una alta concentración de conos los cuales se encargan de determinar la agudeza visual central y la discriminación de colores. Los bastones de la retina comienzan a ser detectables a partir de 0.125 milímetros del centro foveolar y su concentración aumenta a mayor excentricidad. Existe una región conocida como el "hot spot" de bastones localizado a 3.6 milímetros superiores al centro foveolar. Este punto representa la mayor concentración de bastones en la retina.² La función principal de los bastones es brindar sensibilidad ante condiciones de baja luminosidad (condiciones escotópicas).¹ Existe una división anatómica de las regiones retinianas centrales y periféricas de acuerdo al grado de excentricidad del centro foveolar. El polo posterior se considera a la región comprendida entre las arcadas vasculares temporales. La periferia media es la región entre las arcadas vasculares y los 60 grados de excentricidad. La periferia extrema es la región retiniana que se encuentra más allá de los 60 grados.³

1.2 Enfermedades Heredodegenerativas de la Retina

Las enfermedades heredodegenerativas de la retina (EHDs) son un grupo de enfermedades hereditarias caracterizadas por una degeneración progresiva de la retina neurosensorial que afectan de forma primaria a los fotorreceptores conos y bastones y al epitelio pigmentado de la retina. La afectación de los fotorreceptores origina pérdida de visión y en etapas avanzadas pueden llegar a la ceguera. Existen más de 300 genes descritos como la causa genética de este grupo de enfermedades. ⁴

1.3 Retinosis Pigmentaria

Retinosis Pigmentaria es el término general para definir las enfermedades hereditarias de la retina caracterizadas por la degeneración celular progresiva de bastones y conos en la retina. ⁴

La prevalencia de Retinosis Pigmentaria a nivel global es de 1 en cada 4000 habitantes.⁵ Esta enfermedad puede ser transmitida con un patrón autosómico dominante (entre el 30-40% de los casos), autosómico recesivo (entre el 50-60% de los casos) y ligada al cromosoma X (entre el 5-15% de los casos).⁵ El descubrimiento en el año 1990 de una mutación en el gen de rodopsina en una familia con retinosis pigmentaria autosómica dominante representó el primer diagnóstico molecular en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina⁶. La evolución en las técnicas de diagnóstico molecular ha permitido una mejoría significativa en la detección de las mutaciones causales en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina; en algunos reportes alcanzando hasta el 80% de éxito en poblaciones específicas ⁷.

1.4 Evaluación clínica en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina

1.4.1. *Evaluación funcional de los fotorreceptores:* El electroretinograma global permite evaluar la función de los fotorreceptores periféricos de la retina ⁸. El estudio consiste en estimular con flashes de luz de diferente intensidad y el registro eléctrico de los fotorreceptores y células de la retina interna se obtiene por medio de un electrodo de contacto.⁸ La evaluación funcional de los conos y bastones periféricos por medio del electroretinograma global ha sido utilizada para diagnóstico, clasificación y como parámetro de seguimiento en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina.

La campimetría cinética de Goldman es una prueba psicofísica que se realiza con estímulos de luz blanca de diferente tamaño e intensidad abarcando todo el campo visual del paciente. El resultado permite obtener información acerca de la función de los conos centrales y periféricos de la retina en todo el campo visual de los sujetos evaluados. ⁹

La campimetría estática cromática es una prueba psicofísica que permite determinar la función topográfica de fotorreceptores en la retina. El fundamento de esta prueba es con base a la sensibilidad espectral escotópica y fotópica de los fotorreceptores. La utilidad de esta prueba en determinar la función topográfica de los fotorreceptores aun en etapas avanzadas de la enfermedad ha sido reportado en la literatura. ¹⁰

1.4.2 *Evaluación estructural de los fotorreceptores:* La tomografía de coherencia óptica (TCO) representa una herramienta útil para el estudio de enfermedades vítreoretinianas. Las imágenes transversales que se obtienen permite el análisis de la histología de la retina sin necesidad de realizar biopsia

de tejido.¹¹ El análisis estructural de la retina ha permitido establecer el diagnóstico, seguimiento de la progresión de la enfermedad e incluso ha sido utilizado como una variable determinante para decidir los sitios de tratamiento con base en terapia de reemplazo génico.¹²

El estudio de Autofluorescencia (AF) permite evaluar la integridad estructural del epitelio pigmentado de la retina. La AF se define como la fluorescencia intrínseca que emite una sustancia tras ser estimulada por una energía excitadora externa. El uso clínico retiniano del estudio de AF se basa en la capacidad de fluorescencia de la lipofuscina que se acumula en las regiones maculares y extramaculares.¹³

1.5 Retinosis Pigmentaria ligada al cromosoma X asociada a mutación en *RPGR*

Dentro de los casos de retinosis pigmentaria con herencia ligada al cromosoma X, la mayoría corresponden a mutaciones en el gen *regulador de GTPasa de retinosis pigmentaria (RPGR)*, por sus siglas en inglés). La mayor expresión de este gen se encuentra a nivel del cilio conector en conos y bastones. La función de *RPGR* está relacionada con el transporte de proteínas entre el segmento interno y externo de los fotorreceptores.¹⁴ Mutaciones en el gen *RPGR* se han encontrado en más del 70% de los pacientes con retinosis pigmentaria ligada a X,¹⁴ y el mayor número de mutaciones se localiza en la región *ORF15* de este gen.¹⁵

Existe un rango de variabilidad fenotípica descrito en retinosis pigmentaria causadas por mutaciones en *RPGR-ORF15*. Usualmente los pacientes

presentan nictalopia y alteraciones en el campo visual periférico entre la primera y segunda década de la vida asociados a preservación de agudeza visual.^{15, 16}

La evaluación funcional global de la retina por medio del electroretinograma usualmente es anormal y generalmente no existe respuesta de conos y bastones detectable en etapas tempranas de la enfermedad.¹⁷ La evolución del daño funcional de la retina ha sido descrita como rápidamente progresiva en comparación con otras formas de retinosis pigmentaria.¹⁶

El análisis funcional por medio de campimetría cromática estática ha mostrado que existe una disminución en la sensibilidad retiniana para la visión mediada por conos y bastones en la retina central y periférica.¹⁸ Un hallazgo importante ha sido la preservación de sensibilidad retiniana a nivel de la periferia extrema incluso en etapas avanzadas de la enfermedad.¹⁷ El análisis histopatológico *post-mortem* de la retina periférica en pacientes con retinosis pigmentaria asociada a RPGR^{ORF15} ha confirmado la presencia de fotorreceptores a nivel de la periferia extrema.^{19,10} Este hallazgo histopatológico ha permitido correlacionar estructural y funcionalmente la retina periférica extrema en este grupo de pacientes.¹⁷ El mecanismo de preservación de esta área periférica se desconoce, sin embargo, teorías relacionadas con menor exposición a la luz o la mayor expresión de factores neurotróficos en los fotorreceptores en esta área han sido propuestas.²¹

El estudio estructural de la retina central en pacientes con retinosis pigmentaria asociada a mutaciones en RPGR ha mostrado el fenómeno de remodelación retiniana ²². Este fenómeno consiste en el engrosamiento de la retina interna asociada a la degeneración de fotorreceptores. El mecanismo fisiopatológico propuesto para el fenómeno de remodelación está relacionado

con una respuesta neuroglial anormal en las células de Müller ²². Esta zona de remodelación se encuentra en la zona de transición entre la retina normal y la retina con degeneración de fotorreceptores. La identificación de la zona de transición en las enfermedades heredodegenerativas de la retina tiene importancia para la planeación de los sitios estratégicos para tratamiento con base en terapia génica de reemplazo.²³

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconoce la expresión fenotípica funcional y estructural de la retina en pacientes mexicanos con retinosis pigmentaria ligada a X asociada a mutaciones del gen *RPGR*^{ORF15}. Se desconoce la prevalencia de variantes patogénicas en el gen *RPGR*^{ORF15} en población mexicana.

3.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el grado de afectación funcional y estructural retiniana en pacientes con Retinosis Pigmentaria ligada a X asociada a *RPGR*^{ORF15}

4.- JUSTIFICACIÓN

El empleo de técnicas de diagnóstico clínico avanzado que permiten evaluar la función y estructura retiniana permiten entender la expresión fenotípica en pacientes con Retinosis Pigmentaria ligada a X asociada a mutaciones en el gen *RPGR*^{ORF15}. La información derivada de este estudio permitirá entender la expresión fenotípica de esta enfermedad y esto permitirá avanzar en el entendimiento y planeación de estrategias dirigidas a detener la progresión de la enfermedad.

5.- OBJETIVO GENERAL

Caracterizar funcional y estructuralmente la retina neurosensorial en pacientes con diagnóstico de retinosis pigmentaria ligada a X asociada a la mutación en *RPGR*^{ORF15}.

6.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Evaluar la presencia de capa nuclear externa en las regiones retinianas centrales por medio de tomografía de coherencia óptica en sujetos con retinosis pigmentaria ligada a X asociada a mutaciones en *RPGR*^{ORF15} y comparado con sujetos normales.
- b) Determinar la excentricidad de la zona de transición entre la degeneración retiniana y la retina con preservación estructural de fotorreceptores por medio de la cuantificación de línea elipsoide.
- c) Determinar el grado de afectación de epitelio pigmentado retiniano por medio de Autofluorescencia de onda corta.
- c) Determinar el grado de engrosamiento retiniano parafoveal a 2 mm extrafoveal en el meridiano horizontal de las capas internas de la retina por medio de tomografía de coherencia óptica de dominio espectral.
- d) Determinar el grado de función de conos y bastones periféricos por medio de electroretinograma global siguiendo las normas que establece la Sociedad Internacional de Electrofisiología Visual.
- e) Determinar la función retiniana topográfica de conos y bastones por medio de campimetría cromática y campimetría visual de Goldman.

7.- MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio descriptivo, transversal y observacional.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Sujetos con Retinosis Pigmentaria debida a mutaciones en *RPGR*^{ORF15} evaluados en el Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana entre Noviembre del 2016 y Noviembre del 2019

Criterios de inclusión

- 1) Sujetos masculinos con diagnóstico clínico de Retinosis Pigmentaria ligada a X.
- 2) Diagnóstico molecular confirmado con mutaciones en el gen *RPGR*^{ORF15}.

Criterios de exclusión

- 1) Sujetos con alteraciones en el segmento anterior que impidan la visualización retiniana.
- 2) Sujetos con antecedente de enfermedades inflamatorias del segmento anterior o posterior o patología que puedan originar un daño estructural adicional a la retina central y/o periférica.
- 3) Sujetos con antecedente de cualquier cirugía vítreoretiniana.

Criterios de eliminación

- 1) Sujetos que decidan retirar el consentimiento informado del estudio.
- 2) Sujetos en los cuales no se logró captar imágenes de TCO.

Tamaño de la muestra

Se llevó a cabo un método de muestreo por conveniencia debido a la baja prevalencia de esta enfermedad en la población general. Se incluyeron pacientes evaluados en el Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana y que ya contaban con diagnóstico molecular confirmado.

Variables del estudio

- 1.- Edad: Se midió en años cumplidos al momento de realizar la evaluación.
- 2.- Sexo: Masculino/Femenino.
- 3.- Refracción: Se midió en base al equivalente esférico calculado en base al componente esférico y cilíndrico en base a refracción automatizada.
- 4.- Agudeza visual: se midió con cartilla ETDRS en ambos ojos sin dilatación pupilar.
- 5.- Grosor de la capa nuclear externa (CNE): Se midió manualmente en base a la imagen hiporrefléctica comprendida entre la membrana limitante externa y la capa plexiforme externa de la retina.
- 6.- Línea elipsoide: Se determinó la presencia o ausencia de esta línea hiperrefléctica y el grado de excentricidad con respecto al centro foveal en los ejes horizontales y verticales.
- 7.- Amplitud eléctrica de respuesta de bastones: Se midió la amplitud de la onda B en el electroretinograma global en fase escotópica para determinar si existe función de bastones periféricos.

8.- Amplitud eléctrica de respuesta de conos: Se midió la amplitud eléctrica por medio de la respuesta flicker con electroretinograma global en fase fotópica para determinar el grado de función en la respuesta de conos.

9.- Sensibilidad retiniana de bastones: Se determinó la sensibilidad topográfica de bastones por medio de campimetría cromática con estímulo luminoso V, longitud de onda de 500 nm, duración 200ms.

10.- Sensibilidad retiniana de conos: Se determinó la sensibilidad topográfica de bastones por medio de campimetría cromática con estímulo luminoso V, longitud de onda de 550 nm, duración 200ms.

Variable	Clasificación	Tipo	Unidad de Medición	Instrumento
Edad	Cuantitativa	Discreta	Años cumplidos	Interrogatorio
Sexo	Cualitativa	Nominal	Masculino / Femenino	Interrogatorio
Refracción	Cuantitativa	Discreta	Dioptías	Refracción
AVMC	Cuantitativa	Continua	logMAR	logMAR
Capa nuclear externa	Cuantitativa	Continua	Micras	OCT
Grosor Retina Interna	Cuantitativa	Continua	Micras	OCT
Línea elipsoide	Cuantitativa	Continua	Micras	OCT
Campo Visual	Cuantitativa	Continua	Grados	Goldmann
Amplitud eléctrica de bastones	Cuantitativa	Continua	Milivolts	Electroretinograma Global
Amplitud eléctrica de conos	Cuantitativa	Continua	Milivolts	Electroretinograma Global
Sensibilidad Retiniana de bastones	Cuantitativa	Discreta	Decibeles	Campimetría cromática

Sensibilidad Retiniana de conos	Cuantitativa	Discreta	Decibeles	Campimetría cromática
---------------------------------	--------------	----------	-----------	-----------------------

Reclutamiento de los participantes

Se invitó a participar a los pacientes del departamento de retina que cumplieron con los criterios de inclusión previamente descritos. Los pacientes que aceptaron ser incluidos autorizaron de forma oral y escrita el consentimiento informado del estudio.

Evaluación clínica de sujetos con RP asociada a RPGR^{ORF15}

Se realizó historia clínica completa incluyendo antecedentes personales no patológicos y patológicos, alergias, medicamentos utilizados, terapia vitamínica y árbol genealógico detallado.

Evaluación oftalmológica de sujetos con RP asociada a RPGR^{ORF15}

Se determinó la agudeza visual mejor corregida (AVMC) medida con cartilla ETDRS en cada paciente. Se determinó refracción y anomalías en párpados y anexos. Se realizó biomicroscopía con lámpara de hendidura del segmento anterior para determinar las características de la conjuntiva, córnea, cámara anterior, iris, reflejos pupilares y estado del cristalino. Se determinó la presión intraocular con tonómetro de Goldmann. La evaluación clínica del segmento posterior se llevó a cabo por medio de oftalmoscopia indirecta para determinar anomalías en el nervio óptico, vasos sanguíneos, retina central y periférica.

Fotografía Clínica de Campo Amplio

Después de dilatación pupilar completa y utilizando imagenología con láser confocal de campo ultra amplio (Optos California, USA) se tomaron imágenes de fondo de ojo abarcando 200° de visualización para documentar los cambios clínicos ecuatoriales y periféricos.

Evaluación estructural de la retina central y periférica

Después de dilatación pupilar completa y utilizando tomografía de coherencia óptica de dominio espectral, se capturaron cortes tomográficos en el eje horizontal y vertical. El tiempo real automático (ART) se estableció en 21 imágenes y se ajustó el foco de enfoque desde 0 hasta +18 dioptrías hasta obtener una imagen clara de la retina. Se midió un corte vertical y horizontal central de 9mm cruzando la fovea para medir las variables estructurales. La evaluación transversal de la retina central se complementó con imágenes infrarrojas de fondo de ojo. Se documentaron los cambios del epitelio pigmentado de la retina por medio de autofluorescencia de onda corta (488 nm) y sensibilidad de 82 con lente de 55 grados (Spectrallis, Heidelberg, Germany) de la región macular y extramacular y de región ecuatorial y periférica por medio de imágenes de campo ultraamplio (Optos California, USA) en todos los pacientes evaluados.

Evaluación funcional de la retina

Después de dilatación pupilar y tras adaptación a la oscuridad después de 40 minutos, se realizó un electroretinograma global siguiendo los estímulos establecidos por la Sociedad Internacional para la Visión Clínica Electrofisiológica (ISCEV, por sus siglas en inglés).⁸ Se obtuvieron registros escotópicos y fotópicos y se determinó la función de conos y bastones periféricos.

Se realizó campimetría visual de Goldman utilizando los estímulos V4e y I4e para determinar la función de conos en todo el campo visual.

Se realizó campimetría bajo adaptación a la luz y a la oscuridad. Se utilizaron estímulos con longitud de onda de 500nm (azul-verde), tamaño V, duración 200ms, ante condiciones escotópicas para obtener la sensibilidad de bastones y con previa adaptación a la oscuridad por al menos 40 minutos. Se utilizaron estímulos con longitud de onda de 600 nm (luz naranja), tamaño V, duración 200ms, ante condiciones fotópicas para obtener la mayor sensibilidad de conos de la retina. Se estimularon 72 puntos con 15° de separación entre cada uno abarcando todo el campo visual en condiciones escotópicas y fotópicas.

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva de las variables cuantitativas incluidas en el estudio.

8.- RESULTADOS

Paciente #1

Masculino 17 años que comienza con nictalopia a los 4 años de edad. A los 8 años se presenta disminución de la agudeza visual en ambos ojos.

Antecedentes personales patológicos negados. Niega el uso de medicamentos y/o suplementos vitamínicos.

A la exploración oftalmológica con lámpara de hendidura se midió una agudeza visual en ojo derecho de 20/60 que mejora a 20/30 con refracción de -2.50 / esférico. En ojo izquierdo se midió una agudeza visual de 20/60 que mejora a 20/30 con refracción de -2.50 / esférico.

La prueba de Farnsworth no reveló ninguna alteración en la visión de colores.

La exploración con lámpara de hendidura del segmento anterior se encontró sin alteraciones.

A la exploración bajo dilatación pupilar del fondo de ojo derecho se encontró retina aplicada, papila naranja, emergencia central de vasos, cambios pigmentarios a nivel macular y área de hiperpigmentación de 3 diámetros de disco (DD) sobre la arcada temporal superior. Áreas de hiper e hipopigmentación puntiformes a nivel ecuatorial y periférica. El fondo de ojo izquierdo se encontró retina aplicada, papila naranja, emergencia central de vasos con áreas puntiformes de hipo e hiperpigmentación a nivel ecuatorial y periférico (**FIGURA 1**).

Las imágenes de autofluorescencia de campo ultraamplio mostraron en ojo derecho áreas de hipoautofluorescencia en región ecuatorial y periférica con un área sobre la arcada temporal superior que se extiende hacia la región

superior de hipoautofluorescencia. En el ojo izquierdo se encontraron áreas puntiformes de hipoautofluorescencia en región ecuatorial y periférica (**FIGURA 1**).

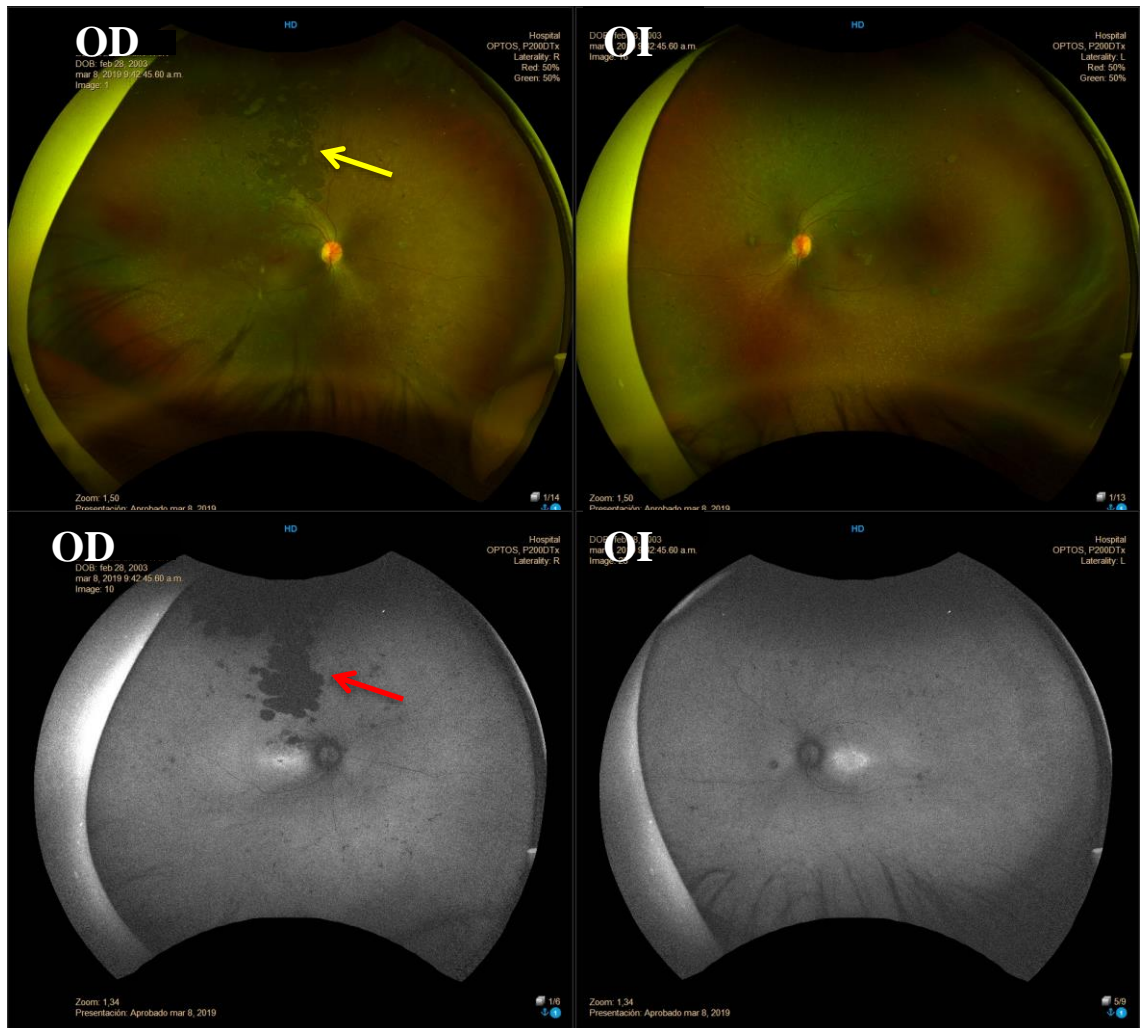


Figura 1.- Fotografía clínica y autofluorescencia de campo amplio de ambos ojos del paciente #1. Se observa área de pigmentación en ojo derecho sobre arcada temporal superior la cual se dirige hacia el sector periférico superior (flecha amarilla). En la imagen de autofluorescencia se aprecia la lesión pigmentada como un área hipoautofluorescente (flecha roja). En ambos ojos se aprecian áreas de hipo e hiperpigmentación con áreas de hipoautofluorescencia puntiformes.

La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (DE-TCO) de retina con cortes centrados a nivel foveal mostraron una nula preservación de línea elipsoide en el ojo derecho y preservación de línea elipsoide a 1047 micras de excentricidad en el plano horizontal y 1288 micras de excentricidad en el plano vertical a la fovea. El grosor de capa nuclear externa a nivel foveal se midió en ojo derecho de 0 micras y ojo izquierdo de 112 micras (**FIGURA 2**).

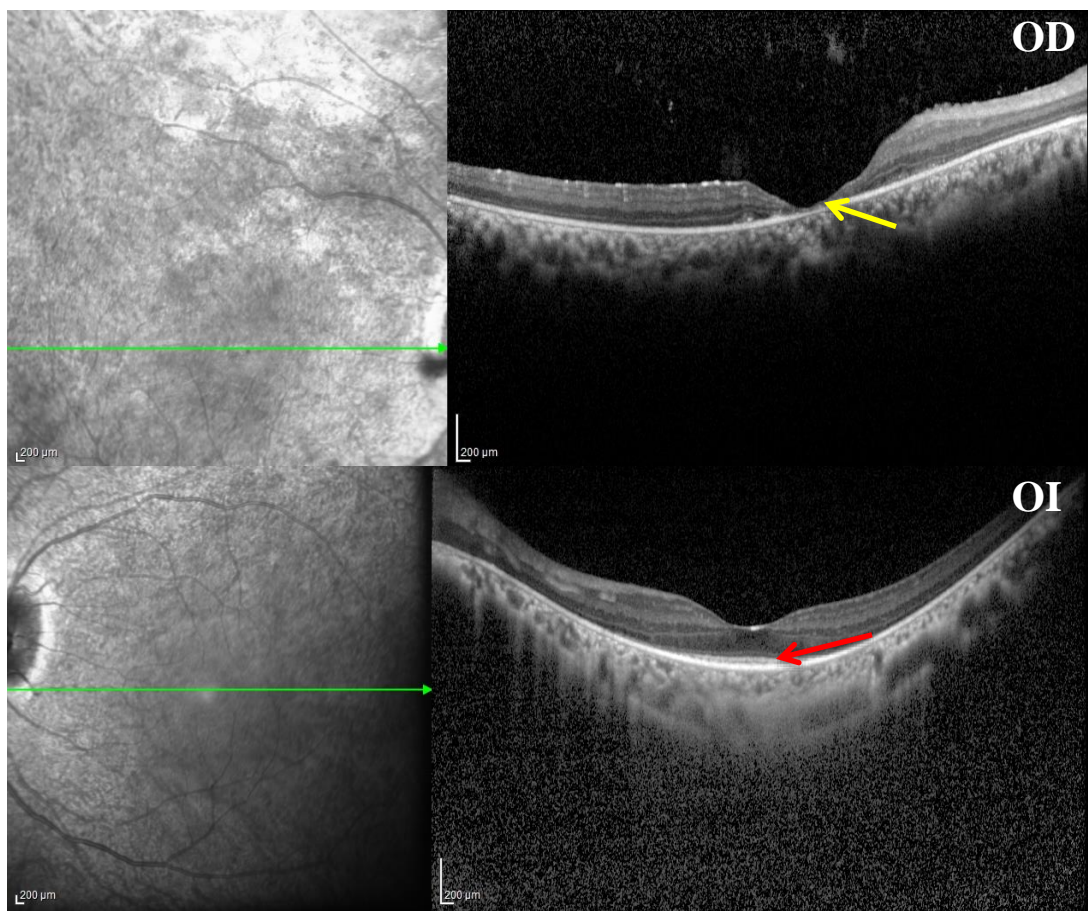


Figura 2.- Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral de ojo derecho y ojo izquierdo del paciente #1 con corte horizontal centrado a nivel foveolar. En ojo derecho se observa un adelgazamiento total de la retina neurosensorial que involucra el centro foveolar (línea amarilla). En ojo izquierdo se aprecia una disminución en el grosor de la capa nuclear externa parafoveal con preservación central de la línea elipsoide (línea roja).

Las imágenes de autofluorescencia de onda corta maculares mostraron una zona anular de hiperautofluorescencia de 1342 micras de diámetro en el ojo derecho y 3142 micras de diámetro en el ojo izquierdo (**Figura 3**).

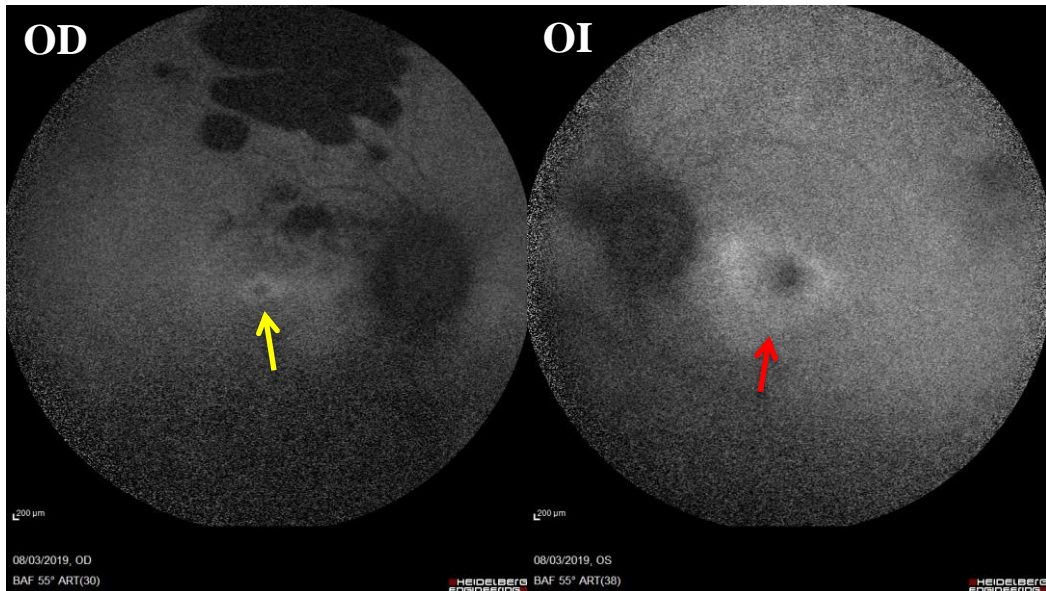


Figura 3.- Autofluorescencia de onda corta (488nm) de ambos ojos en el paciente #1 muestra un anillo de hiperautofluorescencia en región macular en ambos ojos (línea amarilla y roja). Se aprecian imágenes de hipoautofluorescencia por fuera de las arcadas vasculares

La evaluación funcional de la retina por medio de electroretinograma global mostró una respuesta abolida para el sistema de bastones y conos periféricos (**Figura 4**).

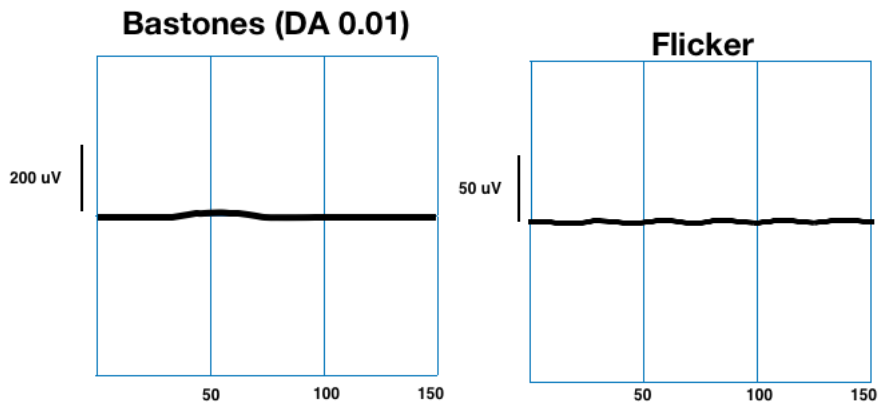


Figura 4.- Respuesta Escotópica (DA 0.01) y Flicker medidas con electroretinograma global de ojo derecho del paciente #1 siguiendo los parámetros de la ISCEV. Existe una respuesta totalmente abolida para el sistema de bastones y conos de la retina.

La evaluación funcional de los conos de retina por medio de campimetría de Goldman mostró la presencia de una isla de visión central con estímulo I4e de 10° de extensión y un campo visual completo con estímulo V4e en el ojo izquierdo (**Figura 5**).

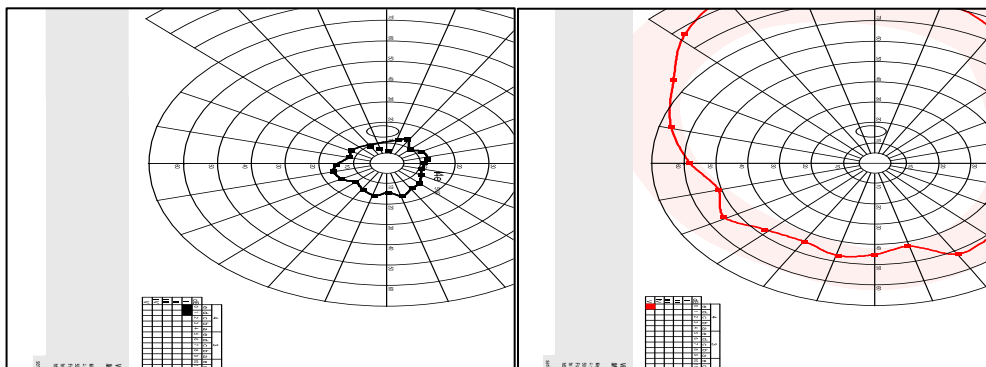


Figura 5.- Campimetría cinética de Goldman de ojo izquierdo del paciente #1 con estímulos I4e (izquierda) y estímulo V4e (derecha) donde se aprecia una isla de visión central en ojo izquierdo y campo visual completo con estímulo V4e.

La evaluación funcional topográfica de los bastones por medio campimetría cromática mostró una respuesta disminuida generalizada con un déficit promedio global de 52.2dB ($p<0.05$) con una varianza de déficit de 13dB ($p<0.05$) y mayor preservación de función hacia los 30° centrales del campo visual. No se encontraron islas de preservación funcional periféricas (**Figura 6**).

La evaluación funcional topográfica de los conos por medio campimetría cromática mostró una respuesta disminuida generalizada con un déficit promedio global de 18.6dB ($p<0.05$) con una varianza de déficit de 8dB ($p<0.05$). No se encontraron islas de preservación funcional periféricas (**Figura 6**).

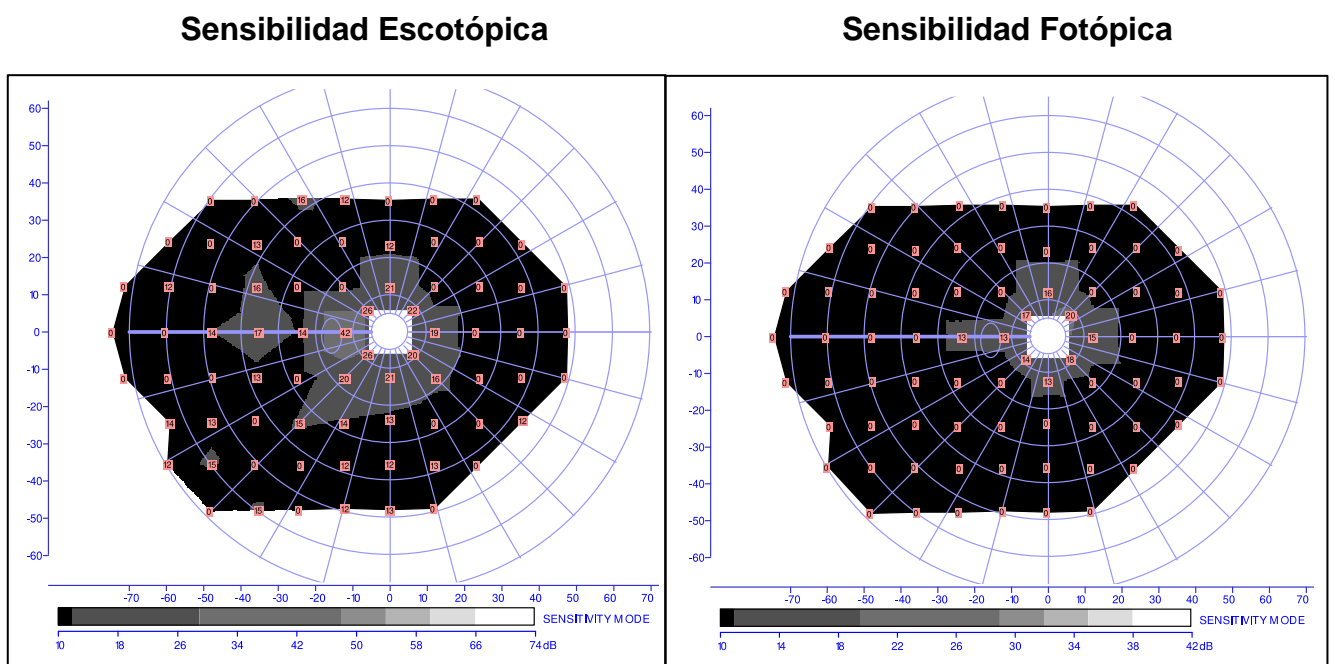


Figura 6.- Campimetría cromática escotópica (izquierda) y fotópica (derecha) en el paciente #1. Se aprecia una pérdida de sensibilidad retiniana para el sistema de bastones y conos en sector ecuatorial y periférico con preservación de sensibilidad dentro de los 30 grados centrales de visión.

ANÁLISIS GENÉTICO

Se realizó estudio de secuenciación de siguiente generación en DNA. La secuenciación masiva permitió identificar una variante patogénica hemicigota en el gen RPGR, la cual fue confirmada por medio de secuenciación tipo Sanger en DNA del paciente e identificada en estado heterocigoto en DNA de la madre (**FIGURA 7**). La variante c.1859_1860delAG predice un cambio p.(Lys620ArgfsTer9) a nivel de la proteína y se considera patogénica ya que no está presente en bases de datos poblacionales, predice una terminación prematura de la proteína y cosegrega en la familia.

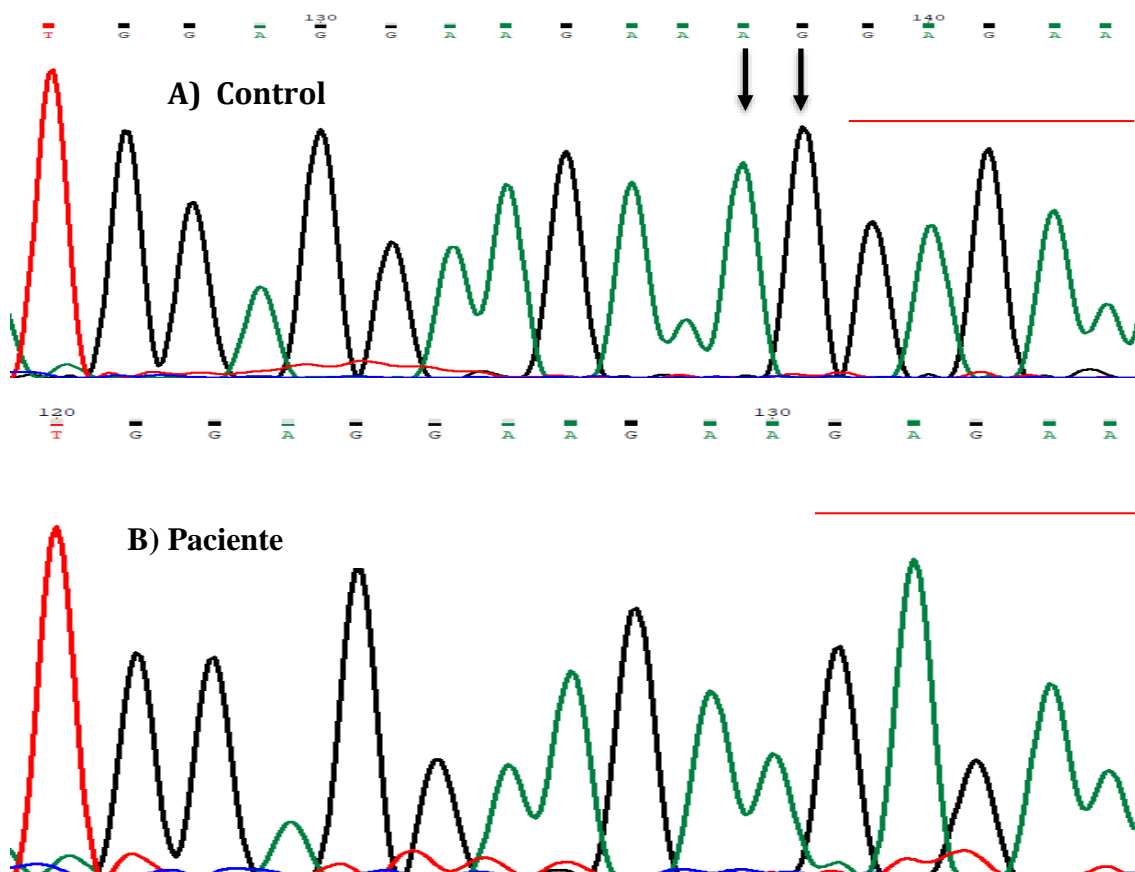


Figura 7.- Secuencia parcial nucleotídica del gen RPGR^{ORF15} en DNA del paciente #1 demostrando la mutación c.1859_1860delAG que causa un corrimiento en el marco de lectura (p.(Lys620ArgfsTer9)). Las flechas verticales señalan los dos nucleótidos faltantes en el paciente comparado con el control. A. Control B. Paciente.

Paciente #2

Masculino 25 años que comienza con nictalopía a los 5 años de edad. A los 6 años se agrega disminución de la agudeza visual que ha sido lentamente progresiva. A los 20 años comienza con fotofobia no progresiva en ambos ojos.

Antecedentes personales patológicos negados. Niega el uso de medicamentos y/o suplementos vitamínicos.

A la exploración oftalmológica con lámpara de hendidura se midió una agudeza visual en ojo derecho de 20/400 que mejora a 20/50 con refracción de -3.50 /-6.00 x 180°. En ojo izquierdo se midió una agudeza visual de 20/400 que mejora a 20/60 con refracción de -2.75 / -5.50 x 180°.

La prueba de Farnsworth no reveló ninguna alteración en la visión de colores.

La exploración con lámpara de hendidura del segmento anterior se encontró sin alteraciones.

A la exploración bajo dilatación pupilar del fondo de ojo de ambos ojos se encontró una retina aplicada, papila naranja, emergencia central de vasos, mácula sin brillo foveal con múltiples áreas de hipo e hiperpigmentación por fuera de las arcadas vasculares que involucran la región ecuatorial y periférica. Las imágenes de autofluorescencia de campo ultraamplio mostraron múltiples áreas de hipoautofluorescencia en región ecuatorial y periférica (**Figura 8**).

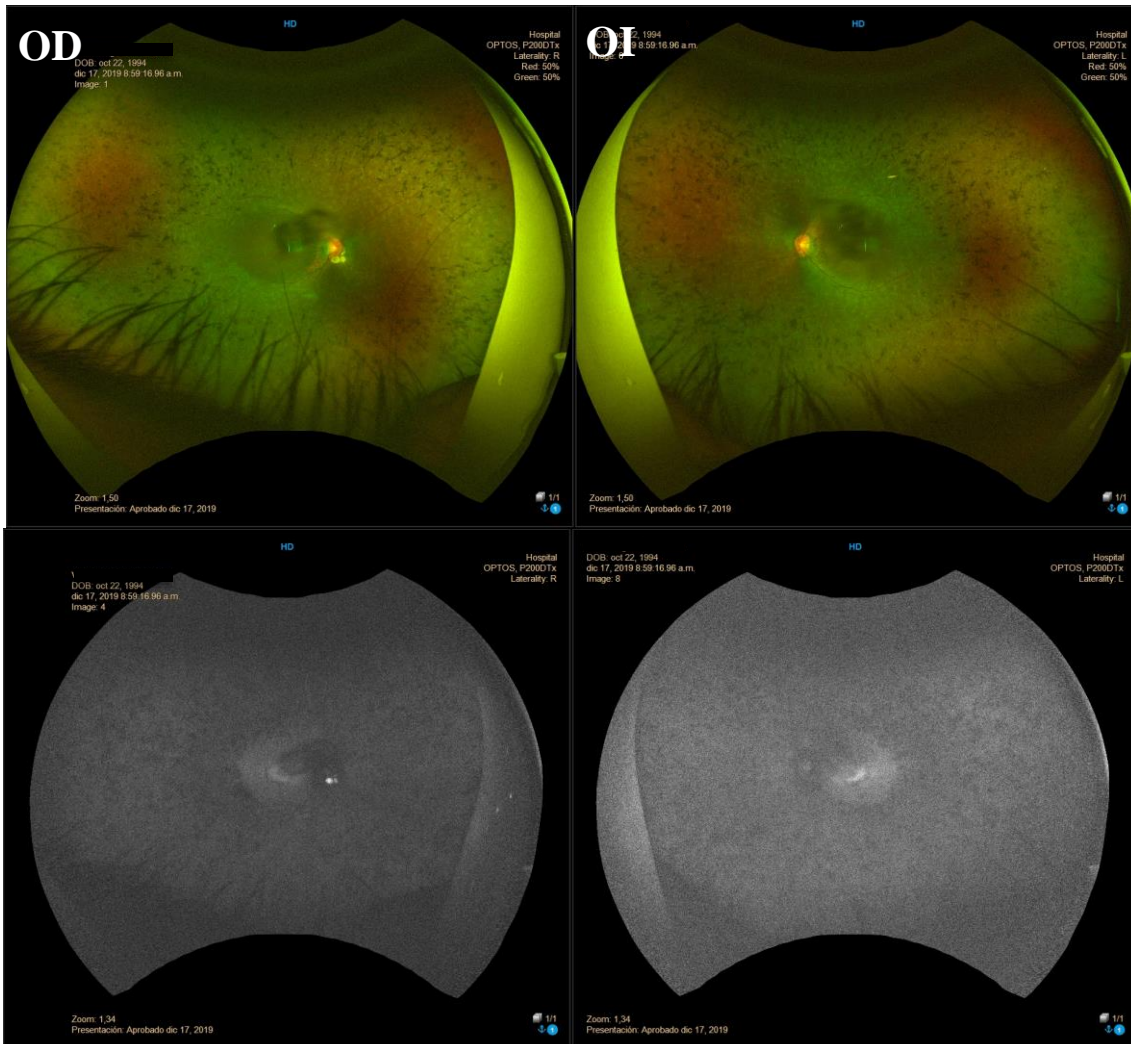


Figura 8. Fotografía de campo ultra amplio de ambos ojos del paciente #2. En la fotografía de fondo de ojo (arriba) se aprecian zonas de hipo e hiperpigmentación en toda el área ecuatorial y periférica que corresponden a pérdida de pigmento a nivel del epitelio pigmentado de la retina y espículas óseas. La imagen de autofluorescencia campo ultraamplio (abajo) muestra zonas de hipoautofluorescencia puntiformes ecuatoriales y periféricas.

La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (DE-TCO) de retina con cortes centrados a nivel foveal mostró la preservación de línea elipsoide a 1245 micras de excentricidad en el plano horizontal y 1290 micras de excentricidad en el plano vertical a la fovea. El grosor de capa nuclear externa a

nivel foveal se midió en ojo derecho de 102 micras y ojo izquierdo de 111 micras
(Figura 9).

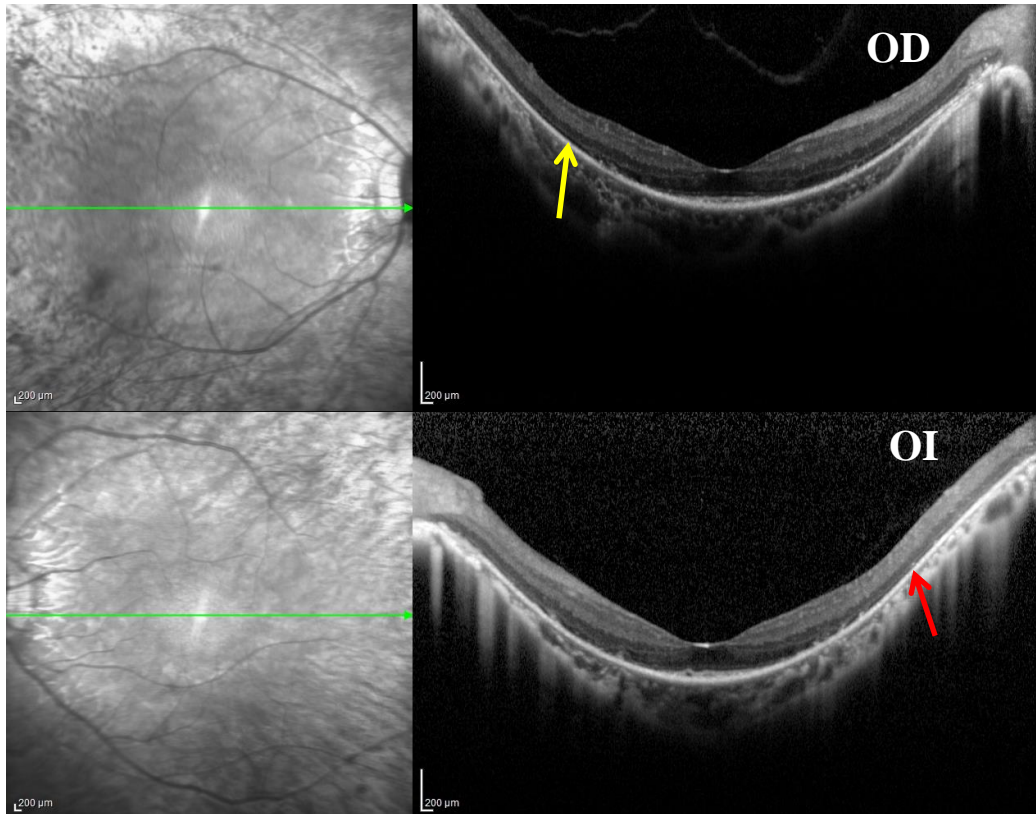


Figura 9. Tomografía de coherencia óptica de dominio espectral de ojo derecho y ojo izquierdo del paciente #2 con corte horizontal centrado a nivel foveolar. En ojo derecho se observa preservación de la capa nuclear externa a nivel foveal con adelgazamiento parafoveal (línea amarilla). En ojo izquierdo se aprecia una disminución en el grosor de la capa nuclear externa parafoveal (línea roja) con preservación central de la línea elipsoide.

Las imágenes de autofluorescencia de onda corta maculares mostraron una zona anular de hiperautofluorescencia de 2931 μ micras de diámetro en el ojo derecho y 2971 μ micras de diámetro en el ojo izquierdo (**Figura 10**).

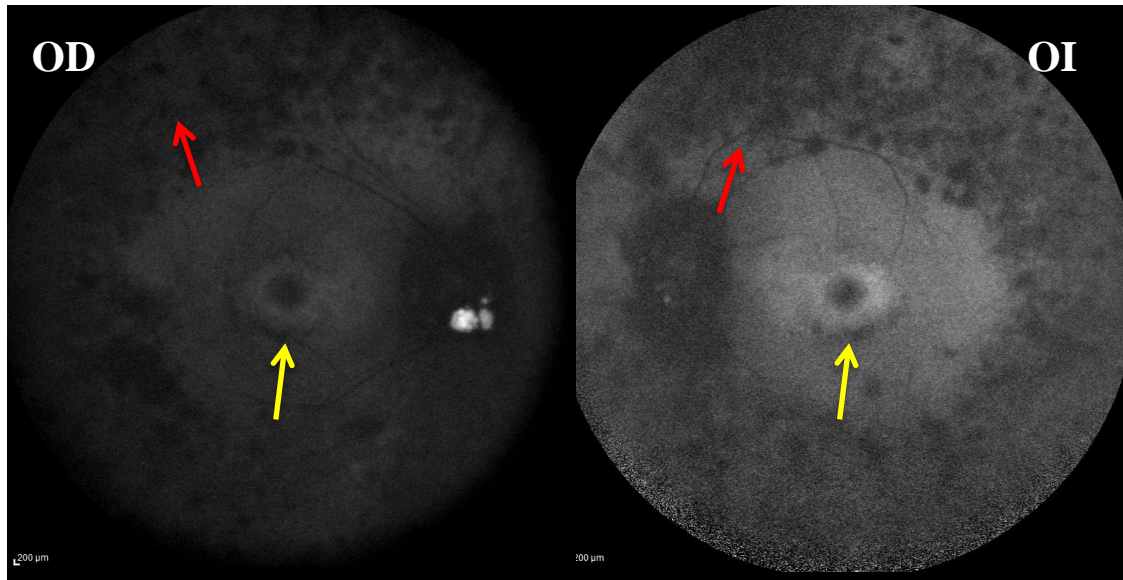


Figura 10. Autofluorescencia de onda corta (488nm) macular de ambos ojos del paciente #2. Se observa un anillo de hiperautofluorescencia en región macular en ambos ojos (línea amarilla). Se aprecian imágenes de hipoautofluorescencia por fuera de las arcadas vasculares (línea roja).

La evaluación funcional de la retina por medio de electroretinograma global mostró una respuesta abolida para el sistema de bastones y conos periféricos (**Figura 10**).

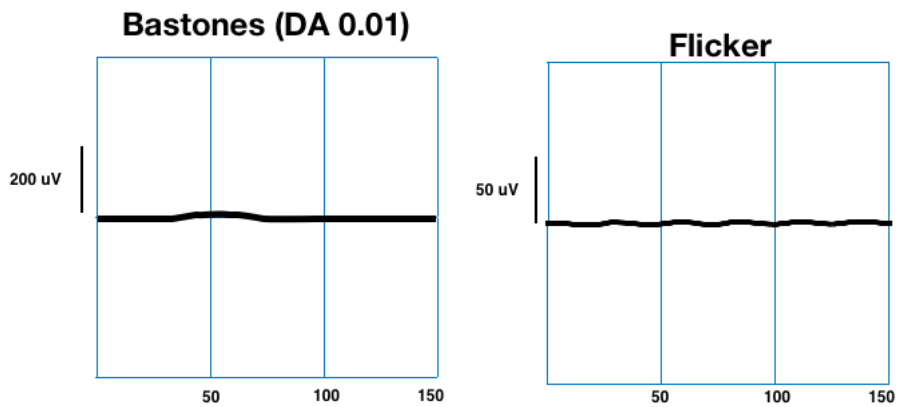


Figura 11.- Electroretinograma global de ojo derecho del paciente #2 donde se muestra una respuesta abolida para el sistema de conos y bastones de la retina.

La evaluación funcional de los conos de retina por medio de campimetría de Goldman mostró la presencia de una isla de visión central con estímulo I4e de 5° de extensión y una isla mayor de visión central y periférica con estímulo V4e de 50° de extensión en ojo derecho (**Figura 12**).

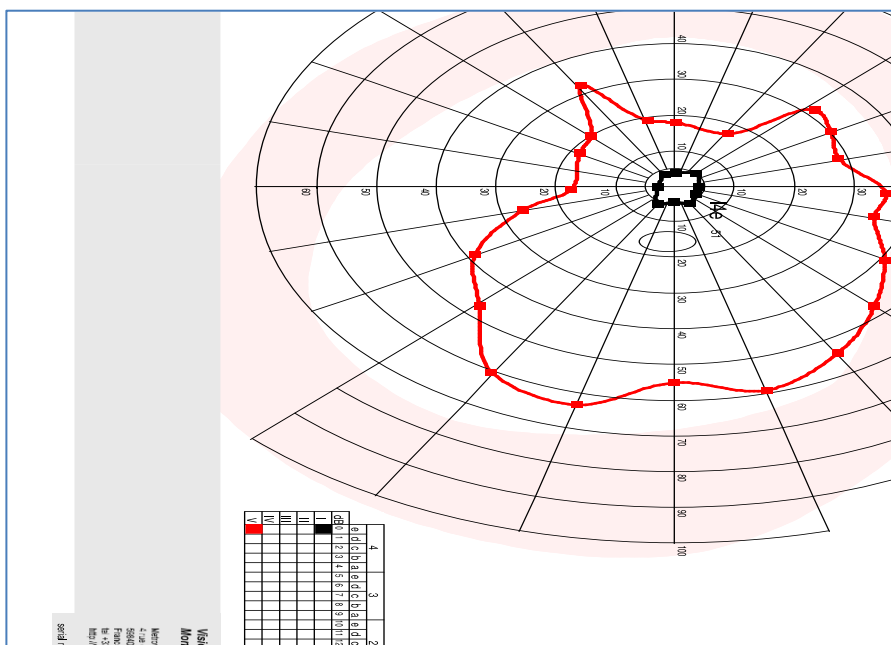


Figura 12.- Campimetría cinética de Goldman con estímulo I4e (línea negra) y V4e (línea roja) en ojo derecho del paciente #2. Se aprecia una isla de visión central con estímulo I4e y una contracción inferior y nasal del campo visual con estímulo V4e.

La evaluación funcional topográfica de los bastones por medio campimetría cromática mostró una respuesta disminuida generalizada con un déficit promedio global de 53.5dB ($p<0.05$) con una varianza de déficit de 6dB ($p<0.05$) y mayor preservación de función hacia los 30° centrales del campo visual. No se encontraron islas de preservación funcional periféricas (**Figura 13**).

La evaluación funcional topográfica de los conos por medio campimetría cromática mostró una respuesta disminuida generalizada con un déficit promedio global de 35.3dB ($p<0.05$) con una varianza de déficit de 22dB ($p<0.05$). No se encontraron islas de preservación funcional periféricas (**Figura 13**).

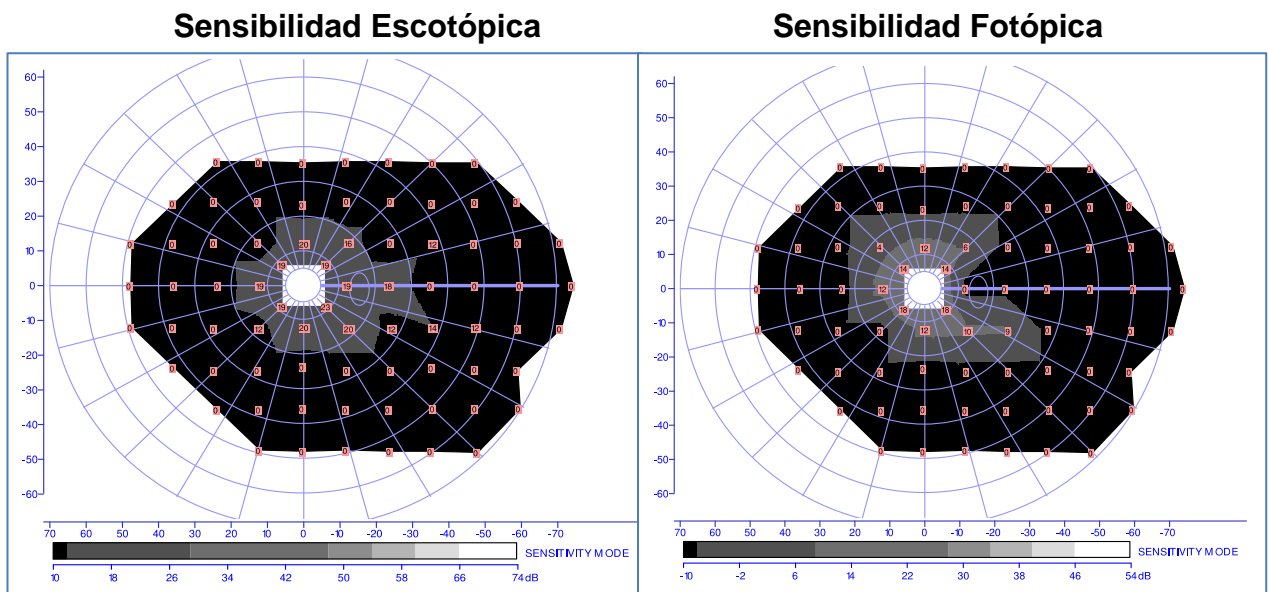


Figura 13.- Campimetría cromática escotópica (izquierda) y fotópica (derecha) en el paciente #2. Se aprecia una pérdida de sensibilidad retiniana para el sistema de bastones y conos en sector ecuatorial y periférico con preservación de sensibilidad dentro de los 30 grados centrales de visión.

ANÁLISIS GENÉTICO

El análisis molecular reveló una mutación hemicigota de novo que consistió en una deleción de adenina, c.2492delA, en el ORF15 de RPGR, la cual dió como resultado un corrimiento de lectura a partir del aminoacido 831, dando lugar a un codon de paro en la posición 1091, p.(Glu831GlyfsTer258) (**Figura 14**).

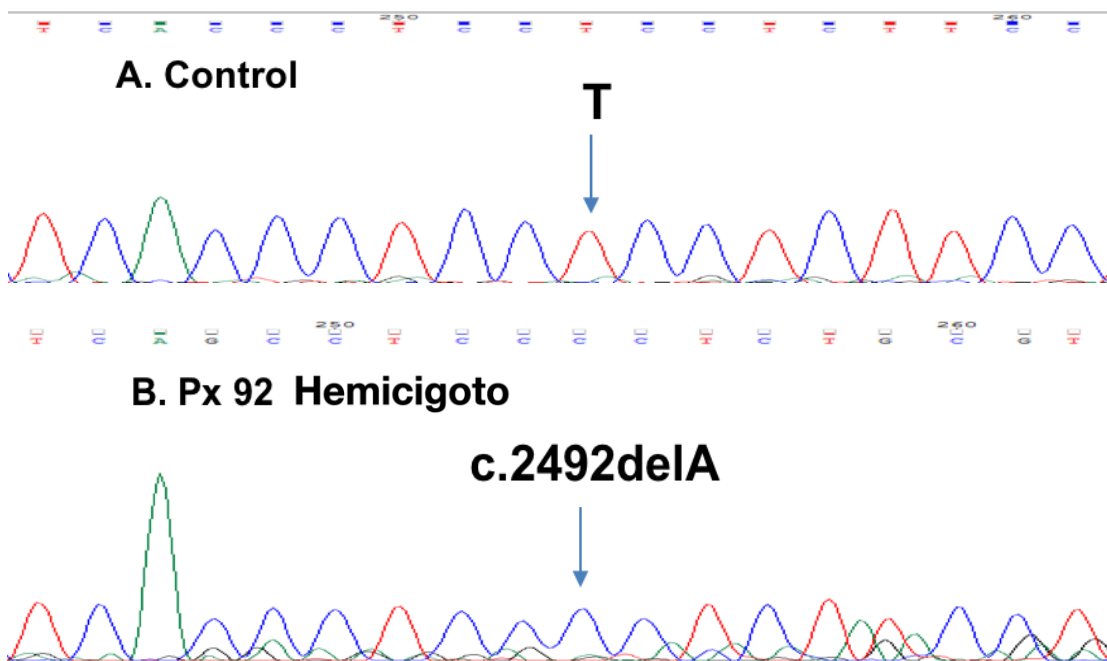


Figura 14. Secuencia parcial nucleotídica del gen RPGR ORF 15 en DNA del paciente #2 demostrando una mutación de novo c.2492delA p.(Glu831GlyfsTer258). A. DNA control; B. Paciente #2, hemicigoto. Se muestra la cadena antisentido de DNA.

Variable	P1		P2		Normal Value
Edad	17		20		—
Sexo	M		M		—
Refracción	-2.50/esf	-2.50/esf	-3.75/-5.75 x 6°	-2.75/- 6.00x 2°	—
AVMC	20/30	20/30	20/400	20/300	20/20
	OD	OI	OD	OI	
Extensión de línea elipsoide	0 μ	H:1047 μ V:1288 μ	H: 1295 μ V:1115 μ	H: 1240 μ V: 1073 μ	Extensión total
Capa nuclear externa foveal	0 μ	112 μ	102 μ	111 μ	72 μ -121 μ
Grosor retina interna extrafoveal a 2mm	206 μ	253 μ	253 μ	300 μ	\leq 130 μ
Anillo de autofluorescencia	1342 μ	3142 μ	2931 μ	2971 μ	Ausente
Amplitud eléctrica bastones	N/D	N/D	N/D	N/D	\geq 191 μ V
Amplitud eléctrica conos	N/D	N/D	N/D	N/D	\geq 66.61 μ V
Pérdida de sensibilidad bastones	N/E	52.2dB (p< 0.05)	53.5dB (p< 0.05)	N/E	\geq 58.68 dB
Pérdida de sensibilidad conos	N/E	18.6dB (p< 0.05)	OD: 35.3dB (p<0.05)	N/E	\geq 22.21 dB
Extensión de CV	N/E	I4e: 10° V4e: XX°	I4e: 5° V4e:50°	N/E	Completa

Tabla 1.- Variables cuantitativas incluidas en el análisis de resultados de ambos pacientes. OD: Ojo derecho, OI: Ojo izquierdo, M: Masculino, N/D: No detectable (rango entre 0 μ V-5 μ V), H: Horizontal, V: Vertical, Esf: componente esférico, N/E: No evaluado.

-Datos normalidad de grosor de capa nuclear externa y retina interna basados en referencia Alemán TS y col. ²²

-Datos normalidad amplitud eléctrica de bastones y conos electroretinograma; basados en el análisis de 8 sujetos sanos pareados con la misma edad, análisis de bastones se basó en estímulo escotópico luz azul (DA 0.01), análisis de conos se basó en estímulo fotópico flicker.

-Datos normalidad sensibilidad escotópica y fotópica; basado en el análisis de 10 sujetos sanos con edades similares a los sujetos incluidos en este estudio, el valor representa la media menos dos desviaciones estándar.

9.- DISCUSIÓN

La retinosis pigmentaria (RP) representa la enfermedad hereditaria más frecuente de la retina. Esta enfermedad afecta a 1 de cada 3,000-4,000 individuos.^{4,5} La retinosis pigmentaria es una enfermedad monogénica. Puede ser heredada con una forma autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada a X. Esta retinopatía puede estar asociada a manifestaciones sistémicas (forma sindrómica) o presentarse de forma aislada.⁴

La triada clínica característica en el fondo de ojo es la presencia de pigmento retiniano con morfología de “espículas óseas”, atenuación vascular y palidez del nervio óptico. Los síntomas asociados a RP comienzan clásicamente en la primera o segunda década de la vida y se caracterizan por la presencia de nictalopía (mala visión nocturna) y constricción del campo visual periférico.⁴

La retinosis pigmentaria ligada a X se asocia en la mayoría de los casos a mutaciones en el gen regulador de GTPasa (RPGR) entre el 70-90% de los pacientes y al gen RP2 entre el 7-18% de los pacientes.²⁴

La expresión de RPGR y RP2 se encuentra a nivel del cilio conector del fotorreceptor. La función de estos genes tiene que ver con el transporte de proteínas del segmento interno hacia el segmento externo del fotorreceptor. Los genes que afectan el transporte de proteínas a nivel del cilio conector se conocen como “ciliopatías”.²⁵

Mecanismo de RPGR

Técnicas de análisis de ligamiento genético y de mapeo por delección han identificado al gen RPGR en el cromosoma Xp21.1. El gen RPGR es un gen que presenta corte y empalme alternativo por lo que codifica para 5 variantes de proteína.²⁶

La porción altamente repetida, rica en residuos de glicina y ácido glutámico (open Reading frame 15) ORF15 de la isoforma retiniana (RPGR-ORF15) es un punto caliente mutacional. El exón ORF15 tiene una secuencia inusual altamente repetida que codifica para 567 aminoácidos ricos en glicina y ácido glutámico los cuales representan un “hot spot”; estas características determinan que el exón ORF15 representa el sitio de mutación más frecuente en pacientes con RP ligada a X. Las mutaciones sin sentido en esta área producen un truncamiento prematuro del producto de la proteína.²⁷

Las isoformas de RPGR se pueden expresar en diferentes tejidos tales como pulmón, riñón, retina, sistema nervioso central y testículos.^{28, 29}

Modelos animales han demostrado que la expresión de la forma constitutiva (RPGR Ex1-19) y la región de alta expresión retiniana (RPGRORF15) se localizan en la base del cilio conector entre el segmento interno y el segmento externo del fotorreceptor. El papel de RPGR a este nivel

sugiere que la función principal es la de transporte de opsinas del segmento interno al segmento externo del fotorreceptor. La anormal localización de las opsinas origina una morfogénesis anormal de los discos en el segmento externo de los conos y bastones.²⁴

El análisis histopatológico post-mortem de una paciente femenina de 75 años portadora de la mutación en *RPGR^{ORF15}* mostró una pérdida discreta de fotorreceptores en las áreas menos afectadas. Atrofia más severa con migración del epitelio pigmentado de la retina (EPR) se encontró a nivel de ecuador y periferia. Por medio de inmunocitoquímica, se encontró una disminución en la tinción de rodopsina en áreas de atrofia focal y una pérdida de espacio uniforme entre conos en las áreas de mejor preservación.³⁰

ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LA RETINA EN PACIENTES CON RETINOSIS PIGMENTARIA ASOCIADA A *RPGR^{ORF15}*

El análisis estructural de la retina permite determinar la severidad y la tasa de progresión de la enfermedad. Existen múltiples estudios que han reportado la utilidad de la tomografía de coherencia óptica y la autofluorescencia como biomarcadores importantes de la retinosis pigmentaria.^{31,32}

Aleman y cols. reportaron en un estudio descriptivo donde incluyeron pacientes con retinosis pigmentaria asociada a *RPGR^{ORF15}* (n:12, edad 10-56 años) encontrando alteraciones estructurales caracterizadas por pérdida del grosor de la capa nuclear externa por fuera de la fóvea en todos los pacientes

asociada a áreas de engrosamiento de la retina interna y pérdida de la capa nuclear externa.²²

El hiperengrosamiento de la retina interna se considera un fenómeno de remodelación retiniana descrito en modelos animales y en seres humanos con enfermedades heredodegenerativas retinianas.³³ Un modelo animal canino portador de una microdelección en RPGR^{ORF15}, mostró que además del adelgazamiento de la capa nuclear externa, las dendritas de los bastones invaden y se extienden hacia la retina interna, esto se acompaña de retracción de las células bipolares, incremento de las células amacrinas reactivas a GABA y una mayor reactividad de células de Müller. Los autores concluyen que estos cambios se dan en etapas tempranas de la enfermedad.³⁴

La capa nuclear externa (CNE) representa un biomarcador de diagnóstico y seguimiento en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina.

32

En los casos incluidos en este estudio encontramos el adelgazamiento total de la CNE a nivel foveal en el ojo derecho con grosor normal de CNE en ojo izquierdo en P1. Este hallazgo asimétrico es poco frecuente en pacientes con enfermedades heredodegenerativas de la retina ya que el grado de degeneración retiniana generalmente tiene una tasa de progresión simétrica entre ambos ojos.^{32, 35} El mecanismo genético de la asimetría en la degeneración entre ojo derecho y ojo izquierdo en P1 es desconocida.

En el caso de P2 se determinó un grosor de CNE normal a nivel foveal con degeneración extrafoveal. Este hallazgo es consistente con la literatura

reportada ya que la degeneración foveal de fotorreceptores se ha reportado generalmente en edades más avanzadas.¹⁷ La preservación de una isla de visión central en etapas tempranas de la enfermedad es frecuente en pacientes hemicigotos afectados con la mutación RPGR^{ORF15}.^{17,18,22}

La línea elipsoide representa la unión entre el segmento interno y segmento externo de los fotorreceptores. La hiperreflectividad de esta zona en la tomografía de coherencia óptica se ha asociado a la presencia de una región rica en mitocondrias. Existen estudios que han demostrado la utilidad de la medición de la línea elipsoide como biomarcador de la progresión de la enfermedad en pacientes con retinosis pigmentaria con diferentes mutaciones.

32

En los casos reportados en este estudio encontramos un grado de degeneración avanzado con la detección de línea elipsoide dentro del área foveal. Este hallazgo tomográfico es consistente^o con la literatura reportada en pacientes hemicigotos portadores de RPGR^{ORF15}.^{18,22}

La autofluorescencia (AF) de onda corta utiliza longitudes de onda de 488nm y permite detectar la presencia de lipofuscina a nivel del epitelio pigmentado de la retina. La utilidad principal de la AF en las enfermedades heredodegenerativas de la retina es la detección de un anillo de hiperautofluorescencia que representa un biomarcador de diagnóstico y seguimiento en pacientes afectados con estas enfermedades.³¹ En el caso de P1 no se identificó anillo de AF macular en el ojo derecho lo cual se correlaciona con el grado avanzado de degeneración retiniana. El centro del anillo de autofluorescencia en el ojo izquierdo de P1 y en ambos ojos de P2 se midió muy

cercano al centro foveal lo cual se traduce en una degeneración retiniana extensa con preservación de laminación retiniana dentro del anillo de AF detectado.

El electroretinograma global es un estudio funcional que permite determinar la función global de los fotorreceptores periféricos, conos y bastones, en la retina.⁸ En ambos pacientes no se logró detectar respuesta eléctrica para los sistemas de conos o bastones lo cual es consistente con la pérdida de función retiniana periférica para ambos sistemas de fotorreceptores.³⁶

La campimetría cromática es una prueba psicofísica que permite determinar de forma topográfica la función de los conos y bastones de la retina aun en etapas avanzadas de la enfermedad. El fundamento de esta prueba se basa en la sensibilidad espectral escotópica y fotópica de los fotorreceptores.

37,38

En los casos incluidos en este estudio se detectó función topográfica dentro los 30 grados centrales de visión para conos y bastones en P1 y P2 con una pérdida similar de función en región ecuatorial y periférica para ambos sistemas de fotorreceptores.

Existen reportes en la literatura donde se han detectado islas de preservación periféricas en sujetos hemiciotos con mutaciones en RPGR^{ORF15}.^{17,18} Esta área de preservación periférica se ha sugerido como un sitio potencial de tratamiento con terapia génica en sujetos que se encuentran

en etapas avanzadas de la enfermedad y que han perdido la función visual central.³⁹

La terapia génica para RPGRORF15 se ha utilizado de forma efectiva como tratamiento para detener la degeneración de fotorreceptores en modelos animales.⁴⁰ Modelos caninos con mutaciones en XLPRA1 y XLPRA2 han sido tratados de forma exitosa con inyección subretiniana de adenovirus con RPGRORF15. El monitoreo post-tratamiento ha demostrado una preservación de capa nuclear externa y mayor integridad de la línea elipsoide en los sitios de tratamiento comparado con los sitios que no recibieron tratamiento.⁴⁰ Estos hallazgos se han confirmado por medio de histopatología donde se ha demostrado que el tratamiento previene la mala localización de la opsina en el fotorreceptor sólo en las áreas que reciben el tratamiento.⁴⁰

Recientemente se ha publicado los resultados del primer ensayo clínico de terapia génica de reemplazo en seres humanos. El tratamiento consistió en la aplicación subretiniana del vector viral AAV8-coRPGR en la región macular y extramacular. Se trató de un ensayo clínico fase 1/2 donde se incluyeron dieciocho pacientes con diagnóstico de retinosis pigmentaria asociada a RPGR^{ORF15} y seguimiento a 6 meses post-tratamiento. Siete pacientes presentaron una mejoría en la función visual la cual se mantuvo al final del seguimiento. La mejoría de función visual se correlacionó con el sitio de tratamiento en todos los pacientes. A mayores dosis del tratamiento se observó inflamación retiniana leve en siete pacientes. La inflamación retiniana se manifestó como depósitos hiperreflécticos subretinianos detectados por medio de tomografía de coherencia óptica; el tratamiento con corticosteroides orales

fue efectivo para la resolución del cuadro inflamatorio en todos los pacientes. Se requiere de mayor seguimiento para evaluar la seguridad y eficacia de la terapia génica de reemplazo subretiniana basada en AAV8-coRPGR.⁴²

CONCLUSIONES

La retinosis pigmentaria asociada a RPGR^{ORF15} representa una forma poco común. El fenotipo de esta enfermedad se caracteriza por afectar a ambos fotorreceptores, conos y bastones, en etapas tempranas de la vida. Los estudios funcionales y de imagen multimodal permiten caracterizar de una forma detallada a pacientes portadores de esta enfermedad. En este estudio hemos caracterizado clínica y genéticamente a sujetos mexicanos portadores de la mutación RPGR^{ORF15} encontrando que el fenotipo de la enfermedad es consistente con los hallazgos clínicos reportados en la literatura. El entendimiento de la expresión fenotípica de esta enfermedad por medio de pruebas funcionales y estructurales con imagen multimodal ha permitido que el día de hoy se ha iniciado el primer ensayo clínico con terapia génica de reemplazo para la mutación RPGR^{ORF15}. El diagnóstico clínico y genético en portadores de esta mutación permitirá incluir a pacientes mexicanos en ensayos clínicos de tratamiento genético para esta enfermedad.

REFERENCIAS

- 1) Bowmaker JK, Dartnall HJ. Visual pigments of rods and cones in a human retina. *J Physiol.* 1980;298:501-11.
- 2) Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE, Hendrickson AE. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol.* 1990;292(4):497-523.
- 3) Ogden TE. *Retina: basic science and inherited retinal disease.* Vol. 1. St. Louis: The CV Mosby Co.; 1989.
- 4) Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *Lancet.* 2006 Nov 18;368(9549):1795-809.
- 5) Bunker CH, Berson EL, Bromley WC, Hayes RP, Roderick TH. Prevalence of retinitis pigmentosa in Maine. *Am J Ophthalmol* 1984; 97: 357–65.
- 6) Dryja TP, McGee TL, Reichel E, et al. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature.* 1990;343(6256):364-6.
- 7) Wang F, Wang H, Tuan HF, Next generation sequencing-based molecular diagnosis of retinitis pigmentosa: identification of a novel genotype-phenotype correlation and clinical refinements. *Hum Genet.* 2014;133(3):331-45.
- 8) McCulloch, Marmor et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol.* 2015; 130:1-12.
- 9) Jacobson, S.G.; Yagasaki, K.; Feuer, W.J.; Roman, A.J. Interocular asymmetry of visual function in heterozygotes of X-linked retinitis pigmentosa. *Exp. Eye Res.* 1989, 48, 679–691.
- 10) Jacobson, S.G.; Voigt, W.J.; Parel, J.M.; Apáthy, P.P.; Nghiem-Phu, L.; Myers, S.W.; Patella, V.M. Automated light- and dark-adapted perimetry for evaluating retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 1986, 93, 1604–1611
- 11) Spaide RF, Curcio CA. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina.* 2011;31(8):1609-19.
- 12) Jacobson SG1, Aleman TS, Cideciyan AV, et al. Identifying photoreceptors in blind eyes caused by RPE65 mutations: Prerequisite for human gene therapy success. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(17):6177-82.

- 13) Cideciyan, A.V.; Swider, M.; Aleman, T.S.; Roman, M.I.; Sumaroka, A.; Schwartz, S.B.; Stone, E.M.; Jacobson, S.G. Reduced-illuminance autofluorescence imaging in ABCA4-associated retinal degenerations. *J. Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis.* 2007, 24, 1457–1467.
- 14) Roepman R, Bernoud-Hubac N, Schick DE, Maugeri A, Berger W, Ropers HH, Cremers FP, Ferreira PA. The retinitis pigmentosa GTPase regulator (RPGR) interacts with novel transport-like proteins in the outer segments of rod photoreceptors. *Hum Mol Genet.* 2000 Sep 1;9(14):2095-105.
- 15) Vervoort R, Lennon A, Bird AC, Tulloch B, Axton R, Miano MG, Meindl A, Meitinger T, Ciccodicola A, Wright AF. 2000. Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 25: 462–466.
- 16) Sandberg MA, Rosner B, Weigel-DiFranco C, Dryja TP, Berson EL. 2007. Disease course of patients with X-linked retinitis pigmentosa due to RPGR gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 1298–1304.
- 17) Huang WC, Wright AF, Roman AJ, Cideciyan AV, Manson FD, Gewaily DY, Schwartz SB, Sadigh S, Limberis MP, Bell P, Wilson JM, Swaroop A, Jacobson SG. RPGR-associated retinal degeneration in human X-linked RP and a murine model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Aug 15;53(9):5594-608.
- 18) Jacobson SG, Buraczynska M, Milam AH, Chen C, Järvaläinen M, Fujita R, Wu W, Huang Y, Cideciyan AV, Swaroop A. Disease expression in X-linked retinitis pigmentosa caused by a putative null mutation in the RPGR gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997 Sep;38(10):1983-97.
- 19) Szamier RB, Berson EL, Klein R, Meyers S. Sex-linked retinitis pigmentosa: ultrastructure of photoreceptors and pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1979;18:145–160.
- 20) Massof RW, Finkelstein D. Vision threshold profiles in X-linked retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1979;18:426– 429.
- 21) Li Z.-Y., Chang, J. H. and Milam, A. H. (1997a) A gradient of basic fibroblast growth factor in rod photoreceptors in the normal human retina. *Vis. Neurosci.* 14: 671–679.
- 22) Aleman TS, Cideciyan AV, Sumaroka A et al. Inner retinal abnormalities in X-linked retinitis pigmentosa with RPGR mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(10):4759-65.

- 23) Jacobson SG, Aleman TS, Sumaroka A et al. Disease boundaries in the retina of patients with Usher syndrome caused by MYO7A gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(4):1886-94.
- 24) Lyraki R, Megaw R, Hurd T Disease mechanisms of X-linked retinitis pigmentosa due to RP2 and RPGR mutations. *Biochem Soc Trans.* 2016 Oct 15;44(5):1235-1244.
- 25) Wright AF, Shu X. Focus on Molecules: RPGR. *Exp Eye Res.* 2007 Jul;85(1):1-2
- 26) Kirschner R, Rosenberg T, Schultz-Heienbrok R, Lenzner S, et al. RPGR transcription studies in mouse and human tissues reveal a retina-specific isoform that is disrupted in a patient with X-linked retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet.* 1999 Aug;8(8):1571-8.
- 27) Vervoort R, Lennon A, Bird AC, et al. Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa. *Nat Genet.* 2000 Aug;25(4):462-6.
- 28) Hong DH, Pawlyk B, Sokolov M, et al. RPGR isoforms in photoreceptor connecting cilia and the transitional zone of motile cilia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2413–21.
- 29) He S, Parapuram SK, Hurd TW, et al. Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator (RPGR) protein isoforms in mammalian retina: insights into X-linked Retinitis Pigmentosa and associated ciliopathies. *Vision Res* 2008;48:366–76.
- 30) Gustavo D Aguirre 1, Beverly M Yashar, Sinoj K John, et al. Retinal Histopathology of an XLRP Carrier With a Mutation in the RPGR Exon ORF15. *Exp Eye Res.* 2002 Oct;75(4):431-43.
- 31) Wakabayashi T, Sawa M, Gomi F, et al. Correlation of fundus autofluorescence with photoreceptor morphology and functional changes in eyes with retinitis pigmentosa. *Acta Ophthalmol.* 2010 Aug;88(5):e177-83.
- 32) Sumaroka A, Matsui R, Cideciyan AV, et al. Outer Retinal Changes Including the Ellipsoid Zone Band in Usher Syndrome 1B due to MYO7A Mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Jul 1;57(9):OCT253-61.
- 33) Jones BW, Pfeiffer RL, Ferrell WD, et al. Retinal remodeling in human retinitis pigmentosa. *Exp Eye Res.* 2016 Sep;150:149-65.
- 34) Beltran WA, Hammond P, Acland GM, et al. A frameshift mutation in RPGR exon ORF15 causes photoreceptor degeneration and inner retina remodeling in

a model of X-linked retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:1669–1681

35) Jacobson SG, Aleman TS, Sumaroka A et al. Disease boundaries in the retina of patients with Usher syndrome caused by MYO7A gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(4):1886-94.

36) Sarwar Zahid, MD, MS, Naheed Khan, PhD, Kari Branham, et al. Phenotypic Conservation in Patients With X-Linked Retinitis Pigmentosa Caused by RPGR Mutations. *JAMA Ophthalmol.* 2013 Aug; 131(8): 1016–1025.

37) Jacobson SG, Voigt WJ, Parel JM, et al. Automated light- and dark-adapted perimetry for evaluating retinitis pigmentosa. *Ophthalmology.* 1986;93:1604–1611.

38) Roman AJ, Schwartz SB, Aleman TS. Quantifying rod photo- receptor-mediated vision in retinal degenerations: dark-adapt- ed thresholds as outcome measures. *Exp Eye Res.* 2005;80: 259–272.

39) Charng J, Cideciyan AV, Jacobson SG, et al. Variegated Yet Non-Random Rod and Cone Photoreceptor Disease Patterns in RPGR-ORF15-associated Retinal Degeneration. *Hum Mol Genet.* 2016 Dec 15;25(24):5444-5459.

40) Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS, et al. Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 ;109(6):2132-7.

41) Beltran WA, Cideciyan AV, Boye SE, et al. Optimization of Retinal Gene Therapy for X-Linked Retinitis Pigmentosa Due to RPGR Mutations. *Mol Ther.* 2017 Aug 2;25(8):1866-1880.

42) Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la Camara C, et al. Initial results from a first-in-human gene therapy trial on X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR. *Nat Med.* 2020 Mar;26(3):354-359.