

Células madre adultas en la terapia de enfermedades de la retina

Adult stem cells in the therapy of retina diseases

Dra.C. Rosa María Pérez Guerrero*, Dr. Rogelio Pérez Rivero**, Dra. Brunilda De Los Ángeles Aveleira Ortiz***, Dra. Migdalis González Leyva****, Dr. Reynaldo Vásquez Pérez*****

*Doctora en Ciencias Médicas. Profesora Auxiliar en Oftalmología. **Especialista de Primer Grado en Hematología. ***Especialista de Primer Grado en Oftalmología. Profesora Asistente. ****Especialista de Primer Grado en Oftalmología. Profesora Asistente. *****Especialista de Primer Grado en Oftalmología. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Hospital General Docente "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Las Tunas, Cuba. **Correspondencia a:** Dra.C. Rosa María Pérez Guerrero, correo electrónico: rmaria@ltu.sld.cu.

RESUMEN

En los últimos años se han publicado algunos artículos que plantean las posibilidades que puede aportar el uso de la terapia celular para el tratamiento de ciertas retinopatías. El presente trabajo pretende comunicar la factibilidad y seguridad de la implantación de células madre en pacientes con degeneraciones de retina, como la retinosis pigmentaria y la degeneración macular seca relacionada con la edad, a partir de un estudio preliminar, realizado en pacientes atendidos en la consulta de oftalmología del Hospital General Docente "Dr. Ernesto Guevara de La Serna", en la provincia de Las Tunas, Cuba. Los mismos fueron tratados con implantación de células madre adultas autólogas, procedentes de la médula ósea, y movilizadas a la sangre periférica mediante el factor estimulador de colonias de granulocitos. Se hizo aplicación local por las vías retrobulbar y peribulbar en ambos ojos, e intravítrea sólo en el ojo más afectado. El resto de las células obtenidas se inyectó por vía endovenosa. Se trataron 30 pacientes en ambos ojos en el periodo de marzo a agosto del presente año. Las variables analizadas fueron: agudeza visual y complicaciones del método de implante. Se pudo comprobar que la mejoría visual en ellos fue en el ojo del triple implante, aplicación intravítrea. En ningún caso hubo reacciones adversas generales y se presentaron complicaciones locales en dos casos, debido a uveítis anterior ligera en un ojo, después del implante de células madre, con resolución a las 72 horas con colirios esteroideos. El estudio evidenció la seguridad del método aplicado y los resultados obtenidos son alentadores, pues crean nuevas perspectivas que pueden contribuir significativamente al tratamiento de estas retinopatías.

Palabras clave: CÉLULAS MADRE; FACTOR ESTIMULADOR DE COLONIAS DE GRANULOCITOS; TERAPIA CELULAR; ENFERMEDADES DE RETINA.

Descriptores: CÉLULAS MADRE; TRATAMIENTO BASADO EN TRASPLANTE DE CÉLULAS Y TEJIDOS.

ABSTRACT

In recent years there have been some articles that show the possibilities that the use of cell therapy can add to the treatment of certain retinopathies. This paper aims to report the feasibility and safety of stem cell implantation in patients with retinal degenerations, such as retinitis pigmentosa and dry macular degeneration related to age, starting from a preliminary study carried out in patients seen in the ophthalmology consultation of "Dr. Ernesto Guevara de La Serna" General Teaching Hospital in Las Tunas province, Cuba. They were treated with implantation of autologous adult stem cells from bone marrow and carried to the peripheral blood by the granulocyte colony-stimulating factor. Local application was made by retrobulbar and peribulbar pathways in both eyes and intra-vitreous only in the affected eye. The rest of the cells obtained were injected intravenously. 30 patients were treated in both eyes from March to August, this year. The variables analyzed were: visual acuity and complications of the implant method. It was proved that their visual improvement was in the eye of the triple implant, intra-vitreous application. No case showed general adverse reactions and local complications occurred only in two cases, due to slight anterior uveitis in one eye after the implantation of stem cells, and solved within 72 hours with steroid eye drops. The study evidenced the safety of the method used and the results obtained are encouraging, since they create new perspectives that can contribute significantly to the treatment of these retinopathies.



Key words: STEM CELLS; GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR; CELL THERAPY; RETINA DISEASES.

Descriptors: STEM CELLS; CELL- AND TISSUE-BASED THERAPY.

INTRODUCCIÓN

Una célula madre es una célula inmadura e indiferenciada, capaz de dividirse indefinidamente, diferenciarse a varios tipos de células especializadas no solo morfológicamente, sino también en lo funcional y de regenerar un tejido dañado. Ernest McCulloch y James Hill identificaron por primera vez en 1961 células madre hematopoyéticas. (1) Los primeros ensayos clínicos en Cuba con células madre hematopoyéticas se comenzaron a partir del 24 de febrero de 2004, fecha en que se realizó el primer trasplante de células madre adultas autólogas, procedentes de la médula ósea, en un paciente con isquemia crítica de un miembro inferior. (2)

En la oftalmología existen múltiples enfermedades que producen baja visión, entre ellas, la retinosis pigmentaria (RP) y la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE). Se ha señalado que las células madre son capaces de restaurar la función de la retina a través de los siguientes mecanismos: diferenciación celular, efecto paracrino y reparación del epitelio pigmentario retiniano (EPR). (3, 4)

En la DMRE hay pequeños depósitos (Drusen) por debajo del EPR. Esto contribuye a la patogénesis de la enfermedad por la alteración de las células del EPR aplicadas a la membrana de Bruch, con disrupción del transporte de la membrana y subsecuente daño del EPR. Esto concommita con estrés oxidativo local, inflamación crónica, cambios de la coriocapilar, degeneración neurosensorial y, finalmente, termina con una atrofia geográfica. (4) La DMRE tiene una ocurrencia de uno en 250 individuos, con una prevalencia de disminución de la visión de 8,7 %. (5, 6) La RP es un conjunto de anomalías hereditarias de manera primaria, difusa y progresiva, que afecta la función del EPR y las células fotoreceptoras.

La RP causa una pérdida lenta de la visión. El síntoma fundamental es la mala visión nocturna, con la pérdida de la visión periférica hasta tener una visión tubular, que se ha llamado "visión de túnel". En algunos casos la visión central se puede afectar en primer lugar. El fondo de ojo en los casos típicos presenta pigmentos, palidez del nervio óptico, disminución del calibre de los vasos, entre otros elementos. La RP tiene una prevalencia aproximada de uno en 5 000 individuos. Afecta a 1,5 millones de personas en el mundo. (7) En Cuba se realizó el pesquiasaje de esta enfermedad por el equipo del profesor Peláez y se comunicó una tasa de 2,45 por 10 000 habitantes, (8) mientras que el estudio realizado en Las Tunas encontró 6,1 por 10 000 habitantes. (9)

El objetivo del presente trabajo es comunicar la factibilidad y seguridad de la implantación de células madre adultas autólogas en pacientes con degeneraciones de retina, a partir de un estudio preliminar, realizado en pacientes atendidos en la consulta de oftalmología del Hospital General Docente "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", en la provincia de Las Tunas, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una investigación preliminar en 30 pacientes con degeneraciones retinianas: 25 con retinosis pigmentaria (RP) y cinco con degeneración macular seca relacionada con la edad (DMRE), con una agudeza visual (AV) desde la percepción luminosa (PL) a 0,3 de entre 18 y 70 años, de ambos sexos y que fueron atendidos en la consulta de oftalmología del Hospital General Docente "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", en la provincia de Las Tunas, Cuba, en periodo comprendido entre marzo y agosto de 2014. Se excluyeron los pacientes con afecciones oculares asociadas o sistémicas descompensadas, alteraciones hematológicas limitantes para participar en el estudio, opacidad de los medios que impidiera la visualización de retina o que no dieron su consentimiento para formar parte del estudio.

Examen oftalmológico:

La agudeza visual se exploró con la cartilla de Snellen a seis metros, utilizando su mejor corrección, comenzando siempre por el ojo derecho; se exploró con el perímetro computarizado, en condiciones mesópicas, después de una adaptación de cinco minutos a esta situación; examen en lámpara de hendidura; electroretinograma estandarizado (ERG) y potenciales evocados visuales (PEV), realizado a los pacientes con RP; retinografía; oftalmoscopia indirecta.

Estas pruebas se realizaron antes del tratamiento, al mes y a los tres meses después del tratamiento. Se consideró evolución satisfactoria desde el punto de vista visual, al mejorar dos o más líneas de la cartilla de Snellen y/o aumento de 10° o más en el campo visual.

Obtención de CMN-SP

La obtención celular se realizó mediante un método simple, de concentración por sedimentación, previamente publicado y extendido en el país. (10) Se usó una pequeña fracción de la suspensión de las células para el recuento celular, la prueba de viabilidad mediante exclusión del azul tripan y para el estudio microbiológico.

Implantación de las CMN-SP

El implante celular se hizo por cuatro vías: la retrobulbar, la subtenoniana, la intravítrea y la endovenosa. Para la inyección retrobulbar se utilizaron 2 ml del concentrado, 2 ml para la subtenoniana y 0,1 ml con 10×10^6 células, se inyectó por vía intravítrea. Ésta se realizó a 4 mm del limbo, si el paciente era fáquico, y a 3 mm, si era afáquico o pseudofáquico. (11) El resto del concentrado se administró por vía endovenosa. La inyección intravítrea se realizó en uno de los ojos.

Todas las implantaciones celulares se realizaron en el salón quirúrgico, con todas las condiciones técnicas requeridas para este tipo de intervención.

Aspectos éticos

El estudio se hizo de acuerdo con los principios establecidos en la Declaración de Helsinki y fue aprobado por los comités científicos y de ética de la institución. Todos los pacientes suministraron por escrito su consentimiento para la participación en el ensayo clínico.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En los últimos años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas, entre ellas la biología celular. Esto ha dado un notable impulso a la rama de la medicina denominada medicina regenerativa. Un aspecto que se debe destacar y que conforma el elemento básico de este tipo de medicina, es que ella se sustenta en conductas usadas por el propio organismo para reemplazar por células sanas a las células dañadas, en determinados tejidos por diversos procesos. Su objetivo es estimular o regenerar células, tejidos u órganos, con la finalidad de restaurar o establecer una función normal. (12, 13)

En Cuba el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos (FEC-G) Filgrastin (Leucocim o Hebevital) de producción nacional es empleado con efectividad para la movilización de las CMN-SP, usadas como terapia regenerativa y sus resultados han sido comparables a los que se obtienen con un reconocido fármaco comercial. (10) Las cifras de CMN-SP obtenidas postmovilización en los pacientes incluidos en este estudio evidencian esa efectividad.

El número de CMN-SP, obtenido después de la movilización con filgrastim, varió de 30-74 células $\times 10^9$, con una cifra mediana de 38×10^9 . El volumen final de la suspensión de células concentradas varió alrededor de 25 ml (mediana 20 ml). En todos los casos la viabilidad celular fue superior al 90 %.

De los 30 pacientes evolucionaron satisfactoriamente 13 de RP y los cinco con DMRE, de acuerdo a la clasificación establecida para la investigación, lo que representa más de un 50 %. A continuación se describen y discuten los cinco pacientes que cumplieron tres meses de evolución, como evidencia del estudio para su presentación preliminar.

FIGURA 1. Fondo de ojo en paciente con DMRE. Microperimetria



CASO 1

Paciente masculino, de raza negra y 61 años de edad, con el diagnóstico de RP típica, que comenzó su enfermedad antes de los diez años de edad, con mala visión nocturna y que durante años se fue deteriorando su visión del campo visual y posteriormente su visión central. ERG no registrable, PEV disminuido. Operado con cirugía revascularizadora hace 20 años y atendido en el Centro de Retinosis de Las Tunas, con tratamientos semestrales de ozonoterapia y electroestimulación durante varios años. La agudeza visual de cuenta dedos cerca de la cara en AO con corrección óptica que no mejoraba, mantenía nistagmo de fijación y campo visual de diez grados. Se evolucionó al día siguiente de la terapia celular, a la semana, al mes y a los tres meses. No se evidenciaron efectos adversos ni complicaciones. La agudeza visual y el campo visual se mantenían sin mejoría a los tres meses. La inyección intravítrea se puso en el OI.

CASO 2

Paciente femenina, de raza blanca y 47 años de edad, con el diagnóstico de RP típica y pseudofaquia en A/O. Inició su enfermedad con mala visión nocturna antes de los diez años. Atendida en el Centro de Retinosis Pigmentaria de Las Tunas con tratamientos de ozono y electroestimulación semestrales. ERG no registrable, PEV disminuido. Se evolucionó al día siguiente de la terapia celular, a la semana y al mes. No se manifestaron alteraciones oculares ni sistémicas. Se comprobó mejoría visual por cartilla de Snellen de dos líneas en OI, de 0,1 a 0,3, con igual refracción. OD:-1,50x180 y OI:-1,50X30, manteniendo en OD igual visión y campo visual. La administración intravítrea se hizo en el OI.

CASO 3

Paciente masculino, de raza blanca y 17 años de edad, con el diagnóstico de RP típica desde los tres años de edad, de herencia autosómico dominante. Presentó mala visión nocturna antes de los diez años. Atendido en el centro de retinosis pigmentaria de Las Tunas con tratamientos de ozono y electroestimulación semestrales. ERG no registrable y PEV disminuido. Se evolucionó al día siguiente de la terapia celular, a la semana, al mes y a los tres meses. No presentó alteraciones oculares ni sistémicas. La AV antes del implante en OD: Cuenta dedos, OI:0,1. La AV cc postimplante OD:+4,00+1,50x180 (0,1) en OI:+4,00+0,50X180 (0,1). Se mantuvo igual la visión central luego del proceder. Se observó una mejoría del campo visual en ambos ojos. En el sector temporal e inferior del OD amplió 30 grados, en OI amplió 20 grados. La inyección intravítrea fue en el OD.

CASO 4

Paciente masculino, de raza blanca y 66 años de edad, con el diagnóstico de DMRE seca en A/O y antecedentes de hipertensión arterial y asma bronquial. Tratado en consulta de retina hace cinco años con tratamiento antioxidante. A la biomicroscopia de polo posterior se observaron múltiples Drusen duros yuxtafoveal en OD y perimacular en OI. Cambios del EPR en A/O. Se evolucionó al día siguiente de la terapia celular, a la semana, al mes y a los tres meses. No se manifestaron alteraciones oculares ni sistémicas. Se comprobó mejoría de la agudeza visual por cartilla de Snellen de CD a 0,1 con sus cristales en ambos ojos. (+2,50 esf.). Se realizó la administración intravítrea en OI.

CASO 5

Paciente masculino, de raza blanca y 68 años de edad, con el diagnóstico de DMRE seca y retinopatía hipertensiva grado en A/O. Antecedentes de hipertensión arterial. Seguido en consulta de retina hace ocho años con tratamiento antioxidante. A la biomicroscopia de polo posterior se describe drusen duros, cambios del EPR en área macular en A/O. Se evolucionó al día siguiente de la terapia celular, a la semana, al mes y a los tres meses. No hubo alteraciones oculares ni sistémicas. Se logró mejoría de la AVcc, con cartilla Snellen de 0,1 a 0,3 en OD (-1...-2,00X105) y de 0,3 a 0,5 en OI (-2,75X80). Se evidenció por microperimetría aumento de la sensibilidad retinal en ambos ojos a los dos meses del implante. Se realizó la inyección intravítrea en el OD.

En esta investigación, cuatro de los cinco pacientes con implante autólogo de células madre inducidas, mejoraron la visión al mes del implante (por cartilla de Snellen), manteniendo la mejoría por tres meses de seguimiento. Un paciente con RP no mejoró la visión central, pero sí la visión periférica. De los dos pacientes con RP que mejoraron la agudeza visual, uno presentó mejoría en su ojo izquierdo de 0,1 a 0,3 por cartilla de Snellen y el otro paciente mejoró en el OD de cuenta dedos a 0,1 y aumentó 30 grados el campo en OD y 20 grados en OI. De los dos pacientes con DMRE seca uno mejoró de cuenta dedos a 0,1 en ambos ojos y el segundo caso mejoró de 0,1 a 0,3 en su OD y de 0,3 a 0,5 en OI y aumento de la sensibilidad retinal. El paciente con RP y visión de percepción luminosa mantuvo la misma visión central y periférica luego del implante.

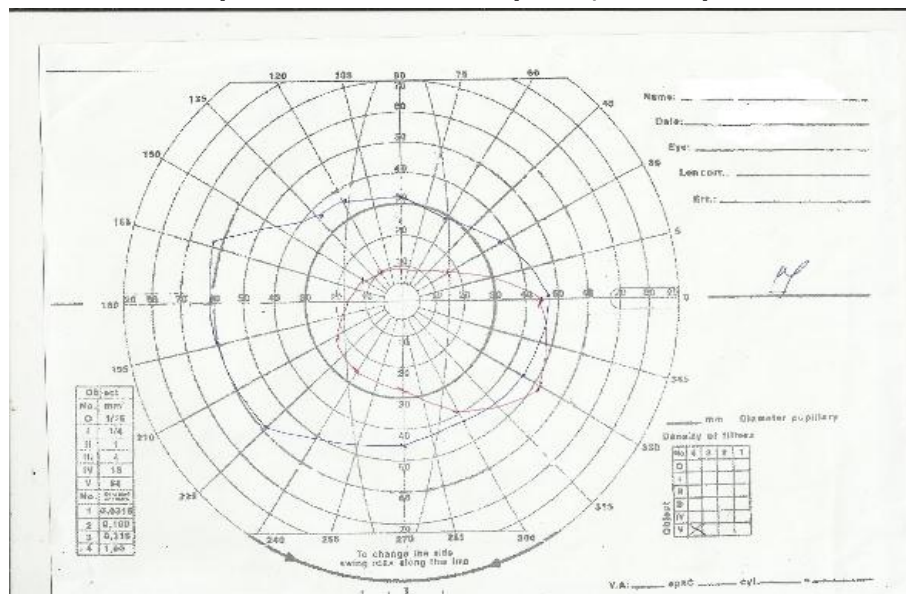
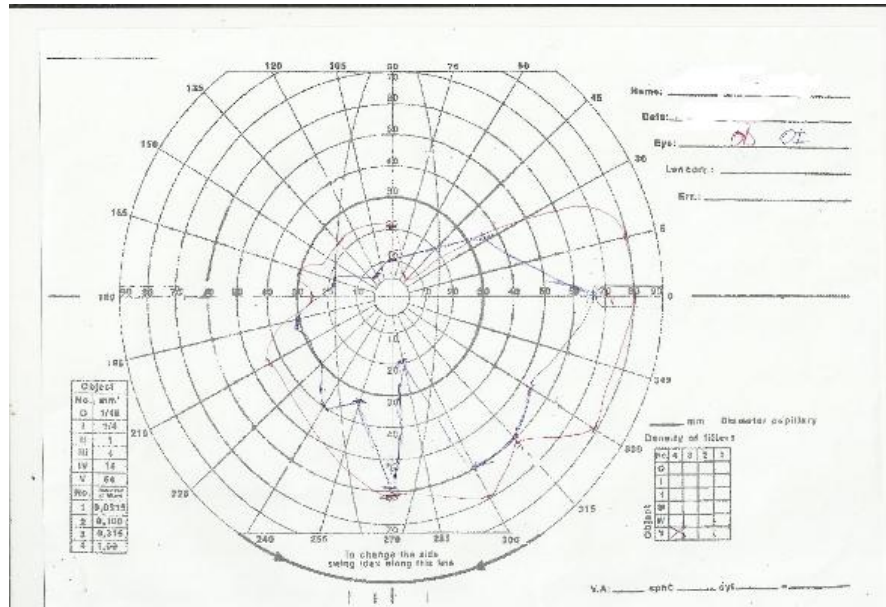
FIGURA 2. Campo visual antes del implante, en un paciente con RP

FIGURA 3. Campo visual después del implante, en un paciente con RP

Los resultados antes referidos coinciden con otros estudios. En los Estados Unidos de América se han comunicado resultados anecdóticos no publicados de mejoría de alteraciones de la retina, usando las mismas vías de administración celular empleadas en este estudio. (14) También en un reporte preliminar se ha reportado mejoría visual en pacientes con enfermedad de Stargard, con una visión de cuenta dedos a 0,1. (15) En un trabajo de revisión sobre este tema se ha señalado que la terapia celular ha sido efectiva en varios modelos preclínicos de enfermedades degenerativas de la retina, que han incluido la RP y la distrofia macular de Stargardt. Por otra parte, en algunos ensayos clínicos se han visto resultados también beneficiosos, como la mejoría de la visión de 20/500 a 20/200 dos semanas después de la aplicación de la terapia celular y que se puede evitar la progresión a la atrofia geográfica en la DMRE seca posterior a la intervención. (16) Otros autores tampoco han encontrado efectos adversos de la terapia celular en modelos animales con retinopatías y han sugerido la potencialidad que ofrece la terapia celular para el tratamiento de algunas enfermedades degenerativas de la retina. (17)

Se evidenció por microperimetría un aumento de la sensibilidad retinal en ambos ojos en un paciente con DMRE a los dos meses del implante.

El uso de terapia celular mediante inyección intravítrea de 0,1ml, que contenía $0,92 \times 10^4$ de células hematopoyéticas derivadas de médula ósea, proporcionó una resolución en siete días del edema macular quístico, en una paciente con RP con un aumento de la sensibilidad retinal por microperimetría. (18)

En todos estos pacientes la implantación celular se hizo retrobulbar y peribulbar en ambos ojos, pero la

intravítrea se le colocó en uno de los ojos (el más afectado). La mejoría visual de estos pacientes fue en el ojo del triple implante, es decir, en el ojo que se aplicó la intravítrea, lo que sugiere la importancia de la aplicación en este sitio y que concuerda con los resultados favorables, comunicados en estudios publicados sobre la inyección intravítrea de CM en las distrofias de retina. (19)

CONCLUSIONES

Se lograron realizar los primeros casos con implante celular en pacientes con retinosis pigmentaria (RP) y degeneración macular seca relacionada con la edad (DMRE), los resultados han sido alentadores, pues han mostrado la seguridad del método aplicado. De los 30 pacientes evolucionaron satisfactoriamente 18, trece de RP y los cinco con DMRE. Así, se crean en el territorio nuevas perspectivas, que pueden contribuir significativamente al tratamiento de estas degeneraciones retinianas.

AGRADECIMIENTOS

El grupo de investigadores del presente trabajo desea agradecer de manera especial al Profesor Porfirio Hernández Ramírez, Doctor en Ciencias Médicas y Hematólogo del Instituto de Hematología e Inmunología, por sus enseñanzas y asesoría en el tema de medicina regenerativa, incluyendo los principios éticos que nos inculcó en una investigación como esta, de manera desinteresada y sin lo cual no hubiera sido posible realizar implantes de células madres en el servicio de Oftalmología del Hospital Provincial Docente "Dr. Ernesto Guevara de la Serna" en la Provincia de Las Tunas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Mata Miranda M, Vázquez Zapién Gustavo J, Sánchez-Monroy V. Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatol. Reprod. Hum* [revista en internet] 2013 Ene [citado 11 de noviembre 2014]; 27(3): 194-199. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-53372013000300009&lng=es.
2. Hernández Ramírez P, Dorticós Balea E, Hernández Padrón C, Cortina Rosales L, Marsán Suárez V, Macías Abraham C et al. Trasplante de células madre autólogas en el miembro inferior isquémico de un paciente con arteriosclerosis ocliterante crítica. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en internet] 2005 Abr [citado 11 de noviembre 2014]; 21(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000100007&lng=es.
3. Siqueira R, Voltarelli JC, Mesias-Vieira AM, Rodrigo J. Possible mechanisms of retinal function recovery with the use of cell therapy with bone marrow-derived stem cells. *Arq Bras Oftalmol* [revista en internet] 2010 Sep-Oct [citado 11 de noviembre 2014]; 73(5): 474-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Possible+mechanisms+of+retinal+function+recovery+with+the+use+of+cell+therapy+with+bone+marrow-derived+stem+cells>.
4. Siqueira R. Stem cell therapy for retinal diseases: update. *Stem Cell Research & Therapy* [revista en internet] 2011 Dec [citado 11 de noviembre 2014]; 2(6): 50. Disponible en: MEDLINE Complete.
5. Enzmann V, Yolcu E, Kaplan HJ, Ildstad ST. Stem cells as tools in regenerative therapy for retinal degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2009 Apr; 127(4): 563-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19365041>.
6. Mellough CB, Steel DH, Lako M. Genetic Basis of Inherited Macular Dystrophies and Implications for Stem Cell Therapy. *Stem Cells*. [revista en internet] 2009 Nov [citado 11 de noviembre 2014]; 27(11):2833-45. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19365041>.
7. Huang Y, Enzmann V, Ildstad ST. Stem cell-based therapeutic applications in retinal degenerative diseases. *Stem Cell Rev*. 2011 Jun;7(2). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Stem+cell-based+therapeutic+applications+in+retinal+degenerative+diseases>.
8. Peláez O. (Editor). Tratamiento de la RP. En: *Retinosis Pigmentaria. Experiencia Cubana*. La Habana: Edit. Científico Técnica, 1997: p. 173-8.
9. Pérez Guerrero RM. Caracterización Clínico-Epidemiológica de la Retinosis Pigmentaria en la Provincia de Las Tunas (1990-1999), Tesis Doctoral: Las Tunas: Facultad de Ciencias Médicas "Zoilo Marinello Vidaurreta". Centro Provincial de Retinosis Pigmentaria de Las Tunas. 2002
10. González Iglesias AI, Forrellat Barrios M, González Suárez T, Salgado Arozena O, Fernández Delgado ND, Hernández Ramírez P et al. Obtención y procesamiento de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica para terapia celular en enfermedades angiológicas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en la Internet] 2011 Sep [citado 11 de noviembre 2014]; 27(3): 356-364. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000300012&lng=es.
11. Equía Martínez F, Torres Ríos M, Cabrera Capote A. Manual de diagnóstico y tratamiento en oftalmología. [en línea] 2009 [citado 11 de noviembre 2014]. Disponible en: <http://files.sld.cu/boletincnscs/files/2010/11/respub2010dr-frank-egua.pdf>.
12. Hernández Ramírez P. Medicina regenerativa II: Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en internet] 2006 Abr [citado 11 de noviembre 2014]; 22(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000100002&lng=es.
13. Ferreiro Sánchez AV, Calleja Guerra G, Núñez Camiña M, Bellido Muñoz L. Medicina regenerativa corneal, aplicaciones en oftalmología. *Arch Soc Esp Oftalmol* [revista en internet] 2012 [citado 11 de noviembre 2014]; 87(8) .Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oftal.2012.02.007>
14. Stem Cells Freak. Interview with Dr. Steven Levy [en línea] 2013 [citado 11 de noviembre 2014]. Disponible en: <http://www.stemcellsfreak.com/2013/02/interview-dr-steven-levy.html>.
15. Schwartz S, Hubschman J, Heilwell G, Franco-Cardenas V, Pan C, Lanza R, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet* [revista en internet] 2012 Feb [citado 11 de noviembre 2014]; 379(9817): 713-720. Available from: MEDLINE Complete.
16. Zarbin M. Stem Cells for Retinal Degenerative Diseases. *Review Of Ophthalmology* [revista en internet] 2012 Nov [citado 11 de noviembre 2014]; 19(11): 80-116. Available from: [Academic Search Premier](#).

17. Lu B, Malcuit C, Wang S, Girman S, Francis P, Lemieux L. Long-term safety and function of RPE from human embryonic stem cells in preclinical models of macular degeneration. *Stem Cells* [revista en internet] 2009 Sep [citado 11 de noviembre 2014]; 27(9): 2126-35. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19521979>.
18. Siqueira RC, Messias A, Voltarelli JC, Messias K, Arcieri RS, Jorge R. Resolution of macular oedema associated with retinitis pigmentosa after intravitreal use of autologous BM-derived hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* [revista en internet] 2013 [citado 11 de noviembre 2014]; 48(4): 612-613. Disponible en: <http://cpicmha.sld.cu/>.
19. Siqueira RC, Messias A, Voltarelli JC, Scott IU, Jorge R. Intravitreal injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells for hereditary retinal dystrophy: A phase I trial. *Retina*. 2011 Jun; 31(6):1207. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Intravitreal+injection+of+autologous+bone+marrow-derived+mononuclear+cells+for+hereditary+retinal+dystrophy>.