



**Universidad de Valladolid**



**Máster en Enfermería Oftalmológica**

**Universidad de Valladolid**

**Trabajo de Fin de Máster**

**Curso 2018-19**

**INFLUENCIA DE LA CALIDAD DEL SUEÑO  
SOBRE EL GRADO DE SEVERIDAD DE LA  
RETINOSIS PIGMENTARIA**

**Alumno: Luis Leal Vega**

**Tutor: Eva M<sup>a</sup> Sobas Abad**

**Cotutor: Salvador Pastor Idoate**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	I
ABSTRACT .....	II
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	III
ÍNDICE DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS .....	IV
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. JUSTIFICACIÓN .....	4
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	6
4. ESTRATEGIA PICOT .....	6
5. HIPÓTESIS .....	7
6. OBJETIVOS .....	7
7. MATERIAL Y MÉTODOS .....	8
8. RESULTADOS .....	16
9. DISCUSIÓN .....	21
10. CONCLUSIONES .....	24
11. BIBLIOGRAFÍA .....	25
12. ANEXOS .....	35

## **RESUMEN**

**Introducción - Justificación:** La Retinosis Pigmentaria (RP) comprende un conjunto de trastornos de origen genético responsables de la degeneración y posterior destrucción de las células retinianas implicadas en el proceso de fototransducción. Se trata de la distrofia hereditaria de retina más común, y desafortunadamente, a día de hoy sigue sin existir un tratamiento verdaderamente efectivo que logre detener su evolución o revertir la pérdida de visión que ocasiona, por lo que desde el punto de vista de la investigación, interesa el identificar y controlar los factores relacionados con su progresión para así poder mejorar la calidad de vida de los sujetos afectados a la espera de soluciones más definitivas.

**Objetivo:** establecer el grado de relación existente entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la RP.

**Metodología:** se realizó un estudio observacional transversal con grupo control en el que se valoraron la severidad de la RP y la calidad del sueño de una muestra de 78 pacientes mediante el estudio de su función visual (AV, CV y OCT) y la cumplimentación de dos cuestionarios de autoadministración validados (PSQI y ESS), respectivamente. Además, se intentó comprobar si el análisis de los niveles de melatonina en saliva de estos sujetos podría constituir un método innovador para evaluar de manera objetiva la calidad de su sueño o el grado de severidad de su enfermedad. La influencia de la edad y el sexo de los participantes sobre la gravedad de la patología también fue determinada.

**Resultados:** la calidad del sueño no se relacionó de forma estadísticamente significativa con el grado de severidad de la RP, ni los niveles de melatonina analizados en saliva con estas dos variables. Por su parte, la edad resultó un factor de riesgo para la progresión de la enfermedad, mientras que el sexo no demostró asociarse con la severidad de la misma.

**Discusión:** pese a los resultados obtenidos, debido a la novedad de la temática abordada se requiere de estudios de validación externa que confirmen o refuten tales conclusiones.

**Palabras clave:** Retinitis Pigmentosa, Progresión de la Enfermedad, Sueño, Melatonina, Biomarcadores.

## **ABSTRACT**

**Introduction - Justification:** Retinitis Pigmentosa (RP) comprises a set of disorders of genetic origin responsible for the degeneration and subsequent destruction of the retinal cells involved in the phototransduction process. This is the most common hereditary retinal dystrophy, and unfortunately, to this day there is still no truly effective treatment that can stop its evolution or reverse the vision loss that it causes, so from the research point of view, it is important to identify and control the factors related to its progression in order to improve the quality of life of affected subjects waiting for more definitive solutions.

**Objective:** to establish the degree of relationship between the quality of sleep and the degree of severity of PR.

**Methodology:** a cross-sectional observational study with a control group was conducted in which the severity of PR and sleep quality were assessed in a sample of 78 patients by studying their visual function (AV, CV and OCT) and completing two validated self-administration questionnaires (PSQI and ESS), respectively. In addition, an attempt was made to test whether the analysis of salivary melatonin levels of these subjects could constitute an innovative method to objectively evaluate the quality of their sleep or the degree of severity of their disease. The influence of the age and sex of the participants on the severity of the pathology was also determined.

**Results:** sleep quality was not statistically significantly related to the degree of severity of RP, and salivary melatonin levels were not related to these two variables either. Age was a risk factor for disease progression, while sex was not shown to be associated with disease severity.

**Discussion:** despite the results obtained, because of the novelty of the topic addressed, external validation studies are required to confirm or refute these conclusions.

**Keywords:** Retinitis Pigmentosa, Disease Progression, Sleep, Melatonin, Biomarkers.

## **ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

**ACLARP:** Asociación Castellano Leonesa de Afectados por la Retinosis Pigmentaria.

**ANOVA:** ANalysis Of VAriance.

**AV:** Agudeza Visual.

**BCVA:** Best Corrected Visual Acuity.

**CCI:** Coeficiente Correlación Intraclase.

**CEIC:** Comité Ético de Investigación Clínica.

**CV:** Campo Visual.

**DM:** Desviación Media.

**ELISA:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

**ESS:** Epworth Sleepiness Scale.

**HFA:** Humphrey Field Analyzer.

**IC:** Intervalo de Confianza

**IOBA:** Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada.

**ipRGCs:** Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells.

**ISCIII:** Instituto de Salud Carlos III.

**LOCS:** Lens Opacities Classification System.

**NHC:** Número de Historia Clínica.

**NSQ:** Núcleo Supra-Quiasmático.

**OCT:** Optical Coherence Tomography.

**OR:** Odds Ratio.

**PSQI:** Pittsburgh Sleep Quality Index.

**RP:** Retinosis Pigmentaria.

**SITA:** Swedish Interactive Threshold Algorithm.

## **ÍNDICE DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS**

1. Tabla 1: Timeline del proyecto.....	9
2. Tabla 2: Grado de severidad de la enfermedad .....	16
3. Tabla 3: Escala de interpretación de Landis y Koch .....	20
3. Gráfico 1: Clasificación de calidad del sueño según severidad de RP .....	18
4. Gráfico 2: Clasificación de somnolencia diurna según severidad de RP .....	18
5. Gráfico 3: Valor de melatonina salival en control y según severidad de RP .....	19
6. Figura 1: Visión en túnel propia de RP .....	2
7. Figura 2: Recogida de saliva por babeo.....	11
8. Figura 3: Diferencias entre medias de AV, CV y OCT según severidad de RP .....	17

## **1. INTRODUCCIÓN**

El término “Retinosis Pigmentaria” (RP) hace referencia a un conjunto de desórdenes de origen genético por los cuales las células foto-sensibles encargadas de la transformación de los estímulos luminosos en eléctricos mueren progresivamente debido a mecanismos de degeneración y apoptosis todavía desconocidos <sup>1, 2, 3</sup>.

Como resultado, las personas afectadas experimentan a lo largo de su vida una pérdida gradual de su función visual que en la mayoría de ocasiones conduce irreversiblemente a la ceguera y su discapacidad consecuente <sup>3, 4</sup>.

Pese a constituir la distrofia hereditaria de retina más habitual, la RP pertenece al grupo de las enfermedades consideradas raras o minoritarias, dado que su prevalencia mundial se sitúa en torno a 1 de cada 3.000-5.000 habitantes <sup>5, 6</sup>.

En España se calcula que actualmente el número de personas afectadas supera los 15.000 individuos, estimándose en otros 500.000 los identificados como portadores de los genes defectuosos conocidos hasta el momento <sup>7, 8</sup>.

Se ha observado que las formas de transmisión autosómicas recesivas (20-25%) son más frecuentes que aquellas que presentan un patrón de herencia dominante (15-20%), y estas últimas, a su vez, se dan en mayor proporción que las variantes ligadas al sexo (1-10%), mientras que la otra parte de casos, conformada por el 40-50% de los pacientes restantes, corresponderían a mutaciones de novo (primeras en producirse dentro de un miembro de la misma familia) <sup>9, 10, 11</sup>.

Las estadísticas revisadas de igual modo coinciden en que la RP se presenta de manera ligeramente más común en los varones que en las mujeres (55-63%) <sup>12</sup>.

La reducción de la visión nocturna y del campo visual periférico han demostrado ser las manifestaciones iniciales de la patología, y aunque su ritmo de progresión difiere entre un individuo y otro, con el paso del tiempo suelen evolucionar hacia la incapacidad del paciente para adaptarse en la oscuridad y la adquisición de una visión característica en forma de túnel o cañón de escopeta (Figura 1) <sup>13, 14</sup>.



*Figura 1: Visión en túnel propia de RP<sup>4</sup>.*

De forma más tardía, la enfermedad termina por afectar a las regiones de la retina donde existe un mayor predominio de conos que bastones, por lo que en estadios avanzados también es susceptible de originar problemas en la visión central tales como disminución de la agudeza visual o alteraciones en la percepción de los colores<sup>13, 14</sup>.

El comienzo de aparición de la sintomatología resulta muy variado, encontrándose en la mayoría de casos situado entre los 25 y los 40 años de edad. Con una frecuencia menor, los primeros indicios pueden aparecer durante el periodo infanto-juvenil o presentarse a partir de la quinta o sexta década de vida<sup>15, 16</sup>.

Teniendo en cuenta que las diversas terapias que hasta ahora han sido probadas en este tipo de pacientes (como la suplementación con vitaminas A y E) han demostrado poseer un efecto limitado sobre la progresión de la enfermedad, llegando a ofrecer en ocasiones resultados contradictorios, se puede afirmar que, a día de hoy, no existe un tratamiento efectivo capaz de detener la evolución del proceso degenerativo o de restaurar la pérdida de visión ocasiona, por lo que la calidad de vida de los sujetos afectados sigue viéndose gravemente comprometida<sup>17</sup>.

En respuesta, las últimas líneas de investigación están dedicando sus esfuerzos a innovar en campos como el de la terapia génica, el trasplante de células madre pluripotenciales o la creación de dispositivos neuroprotésicos para poner fin al desarrollo de esta patología<sup>18, 19, 20</sup>.

Todos estos estudios resultan prometedores, pero altamente costosos, motivo por el cual surgen otros que pretenden prolongar la esperanza de vida de las células fotorreceptoras a través de la identificación y el control de los factores implicados en su destrucción.



El concepto de “calidad del sueño” comprende o integra dos aspectos fundamentales: el conciliamiento de un sueño placentero y el mantenimiento de un funcionamiento diurno adecuado <sup>21</sup>.

Dicha variable se ve alterada por la RP debido a la incidencia de la enfermedad sobre un subtipo de células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (ipRGCs) responsables de mediar la entrada de luz al Núcleo Supra-Quiasmático del hipotálamo (NSQ), principal centro regulador de los ritmos circadianos <sup>22, 23</sup>.

Este grupo de neuronas recibe información sobre la luminosidad ambiental existente por medio de un pigmento denominado melanopsina y en consecuencia ordena a la glándula pineal liberar una mayor o menor cantidad de melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), hormona encargada de sincronizar el ciclo sueño-vigilia y por tanto establecida como un marcador confiable de dicho sistema <sup>24, 25, 26</sup>.

Además de su potencial utilidad como indicador objetivo de la disfunción del sueño, la melatonina ha demostrado poseer propiedades terapéuticas dignas de mención, entre las que destacan sus efectos inductores y reparadores del sueño (de utilidad en trastornos de insomnio y del ciclo circadiano) <sup>27, 28, 29, 30</sup> y su capacidad para neutralizar los radicales libres de oxígeno implicados en la degeneración de las células retinianas <sup>31, 32, 33</sup>.

Podría deducirse pues que en virtud de sus propiedades antioxidantes y de regulación de los ritmos biológicos la melatonina contribuiría a preservar la función visual de este tipo de pacientes de dos modos: retrasando los procesos implicados en la degeneración de los fotorreceptores (como ha confirmado en modelos animales <sup>34, 35</sup> y se espera que haga en seres humanos <sup>36</sup>) y revirtiendo la calidad del sueño alterada, posiblemente asociada a la evolución de los mismos.

Dado que diversos estudios han constatado la influencia de la calidad del sueño sobre el curso clínico de distintas patologías, entre las que se encuentran la obesidad, la diabetes, la hipertensión arterial o los trastornos neurodegenerativos y del estado de ánimo <sup>37, 38, 39, 40</sup>, este Trabajo de Fin de Máster propuso como objetivo principal determinar el nivel de relación existente entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la RP, por ahora no establecido.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Son varios los estudios que anteriormente habían evidenciado que los pacientes con RP presentan una calidad del sueño disminuida en comparación con individuos sanos <sup>41, 42</sup>, sin embargo, todavía se desconoce la repercusión que este factor puede poseer sobre la severidad de la enfermedad.

La calidad del sueño además ha sido tradicionalmente determinada a través de métodos subjetivos como son las escalas o cuestionarios de autoadministración validados, en los cuales los resultados obtenidos se ven severamente influenciados por la percepción del sujeto que los realiza <sup>43</sup>.

Dadas las limitaciones de estas herramientas, suscita cada vez más interés en el área de la investigación el uso de medidas de evaluación objetivas que permitan una aproximación más acertada a los niveles de calidad del sueño y somnolencia reales del individuo, para así poder relacionarlos en mejor medida con la gravedad de esta y otras patologías.

En este aspecto adquiere cada vez más relevancia el análisis de biomarcadores, sustancias presentes en los fluidos corporales cuyas concentraciones ya han probado vincularse con estados que inicialmente solo podían cuantificarse de forma subjetiva como el dolor o el estrés <sup>44, 45, 46</sup>.

La validación de estas moléculas como indicadores de procesos asociados a la evolución de distintas patologías permitiría actuar de manera más precoz frente a estos fenómenos, minimizando su impacto sobre el curso de la enfermedad y la capacidad funcional de los individuos afectados. Por ello y por la estrecha relación que guarda con la regulación del ciclo sueño-vigilia esta investigación también propone estudiar la potencial validez de la melatonina como indicador objetivo de la calidad del sueño en este tipo de pacientes.

Dado que la evidencia científica señala la existencia de una adecuada correlación entre los niveles de melatonina salival y los niveles de melatonina libre en sangre circulante <sup>47, 48</sup>, se ha propuesto este método para su determinación en el presente proyecto, de modo similar a como hicieron anteriormente otras investigaciones en diversas patologías que no incluyen la RP <sup>49, 50, 51, 52, 53</sup>.

A parte de resultar una técnica económica y sencilla de realizar por el personal sanitario, la recogida de muestras de saliva no implica daño alguno para el paciente, lo que supone una gran ventaja con respecto a otro tipo de procedimientos más invasivos. Sin embargo, el procedimiento para su obtención obliga a tener en cuenta una serie de consideraciones orientadas a evitar o reducir la influencia de ciertos factores sobre las concentraciones del producto que se pretende analizar.

Atendiendo a la melatonina, entre los distintos condicionantes que se ha comprobado que pueden afectar a su cuantía se encuentran la exposición a la luz, la variación estacional y circadiana, la toma regular de anticonceptivos hormonales y el tabaquismo <sup>54, 55, 56, 57, 58</sup>. Otros determinantes como la etnia del sujeto o la fase del ciclo menstrual en las mujeres no parecen alterar su medición, o al menos de manera significativa <sup>59, 60, 61</sup>, mientras que variables socio-demográficas como el sexo o la edad continúan siendo objeto de debate en la literatura científica <sup>62, 63, 64, 65</sup>.

Se requiere pues paliar en la medida de lo posible la influencia estos factores mediante el establecimiento de una serie de criterios de inclusión y exclusión rigurosos y el diseño de un protocolo de recogida de muestras uniforme en el que se proporcione de antemano a los participantes un conjunto de pautas de actuación comunes para así poder garantizar la fiabilidad de las medidas obtenidas.

Del mismo modo, resulta preciso comprobar la variabilidad intersesión de los valores de melatonina salival analizados, pues si dos muestras procedentes de un mismo individuo y obtenidas en un intervalo de tiempo escaso ofreciesen resultados distintos, la sustancia no sería repetible y por tanto representativa del estado que pretende evaluar, en este caso la calidad del sueño.

Por tanto, este Trabajo de Fin de Máster tiene como objetivo no sólo establecer el grado de relación existente entre la calidad del sueño y la severidad de la RP, sino determinar la potencial viabilidad de la melatonina como indicador objetivo de un proceso que, de encontrarse asociado a la evolución de esta patología, podría atenuarse de forma precoz por medio de acciones encaminadas a reducir su impacto sobre el curso de la enfermedad y la capacidad funcional de los individuos que la padecen, mejorando así la calidad de vida de los sujetos afectados a la espera de soluciones más definitivas.

### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe relación entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la enfermedad en pacientes adultos, de ambos sexos, con diagnóstico médico de RP?

### **4. ESTRATEGIA PICOT**

**P** (Población): 78 pacientes de ambos sexos mayores de 18 años con diagnóstico médico de RP procedentes de la Asociación Castellano Leonesa de Afectados por la Retinosis Pigmentaria (ACLARP).

**I** (Intervención): el estudio se basó en dos visitas con un intervalo de separación entre sí de 72 horas. En la primera visita se determinó la severidad de la RP en los pacientes por medio de un examen de agudeza visual, un estudio de campimetría y una Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), se recogieron las muestras salivales necesarias para efectuar el análisis de melatonina de la primera sesión y se solicitó a los sujetos la cumplimentación de las escalas subjetivas de evaluación de la calidad del sueño PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index) y ESS (Epworth Sleepiness Scale), mientras que en la segunda visita, se recogieron las muestras de saliva necesarias para analizar la melatonina correspondiente a la segunda sesión y se realizó una exploración oftalmológica gratuita a cada individuo.

**C** (Comparación): el grupo control de referencia lo conforman un total de 30 individuos sanos, sin antecedentes de enfermedades sistémicas, cuyos niveles de melatonina salival fueron determinados con anterioridad en un estudio realizado por Abdolsamadi et al. <sup>66</sup>.

**O** (Resultados): primarios: severidad de la enfermedad (determinada en función de la agudeza visual mejor corregida alcanzada, los resultados campimétricos obtenidos y los datos proporcionados por OCT), secundarios: calidad del sueño (determinada en función de las puntuaciones adquiridas en las escalas subjetivas de evaluación de la calidad del sueño PSQI y ESS), concentraciones de melatonina salival analizadas y variables socio-demográficas de los integrantes (edad y sexo).

**T** (Tiempo): la recogida de los datos necesarios para efectuar el estudio abarcó desde el 17 de Abril del año 2018 hasta el 15 de Febrero del año 2019. Posteriormente, tuvo lugar el análisis y discusión de los mismos.

## **5. HIPÓTESIS**

La mala calidad del sueño podría ser un factor implicado en la progresión de la RP y la determinación de los niveles de melatonina salival podría constituir un método objetivo innovador para su evaluación.

## **6. OBJETIVOS**

- **Objetivo principal:**

- Establecer la relación existente entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la enfermedad en los pacientes con RP.

- **Objetivos secundarios:**

- Describir las variaciones de melatonina salival encontradas en sujetos sanos y pacientes con RP, así como comprobar su influencia sobre la severidad de la RP.

- Relacionar los niveles de melatonina salival obtenidos con las puntuaciones adquiridas en los tests subjetivos de evaluación de la calidad del sueño.

- Evaluar la influencia de las variables socio-demográficas de los pacientes (edad y sexo) sobre el grado de severidad de la RP.

- Determinar el grado de repetibilidad de los valores de melatonina salival analizados en las dos diferentes sesiones.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1. Diseño del estudio:**

Estudio observacional transversal con grupo control.

### **7.2. Población:**

Pacientes diagnosticados de RP que cumplan con los criterios de inclusión establecidos, así como individuos sanos sin historial de enfermedades sistémicas (como grupo control) cuyos niveles de melatonina salival fueron determinados anteriormente en otro estudio <sup>66</sup>.

### **7.3. Criterios de inclusión:**

Pacientes de ambos sexos,  $\geq 18$  años, diagnosticados de RP y procedentes de ACLARP, que acepten participar en el estudio tras la lectura y posterior firma del correspondiente consentimiento informado.

### **7.4. Criterios de exclusión:**

Pacientes con antecedentes de trastornos psiquiátricos o enfermedades autoinmunes, en periodo de gestación o lactancia, bajo tratamiento hormonal (incluidos anticonceptivos) o en cuyo historial conste un consumo habitual de fármacos analgésicos, antiinflamatorios (principalmente no esteroideos) o psicotrópicos (entre los que se recogen antipsicóticos, anticonvulsivos, antidepresivos, benzodiacepinas, etc.), así como antecedentes de cirugía oftalmológica con un periodo de tiempo inferior a 6 meses.

### **7.5. Estrategia de reclutamiento:**

A través del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de Valladolid, institución en la que tuvo lugar el estudio, el investigador principal del mismo contactó con el director de ACLARP para que este pudiera transmitir a sus miembros el propósito de la investigación y enviar al centro de forma consecutiva cada semana a todos aquellos pacientes interesados en formar parte de ella.

### 7.6. Estrategia de adherencia:

Con el fin de lograr que los pacientes permanecieran vinculados al estudio hasta que su participación en el mismo concluyera, el oftalmólogo investigador principal del proyecto realizó de forma individualizada a cada integrante una revisión oftalmológica completa totalmente gratuita al término de la segunda sesión.

### 7.7. Timeline:

El estudio se basó en dos visitas separadas entre sí por un periodo de tiempo de 72 horas y constituidas por un total de 4 pacientes. Estas se sucedieron de forma consecutiva cada semana (los martes y viernes) hasta alcanzarse el tamaño muestral que fue requerido. En una primera visita 0 se instó a los sujetos a firmar el consentimiento informado necesario para efectuar las intervenciones propias del estudio, si bien esta por motivos de logística se incluyó dentro del día correspondiente a la visita 1, en el cual se determinó el grado de severidad de la enfermedad por medio de un examen de agudeza visual, un estudio campimétrico y un OCT, se recogieron las muestras de saliva necesarias para efectuar el análisis de melatonina de la primera sesión, y se cumplieron los tests subjetivos de evaluación de la calidad del sueño PSQI y ESS. Por su parte, en la visita 2 se recogieron las muestras de saliva necesarias para efectuar el análisis de melatonina correspondiente a la segunda sesión y se realizó una exploración oftalmológica completamente gratuita a cada individuo que participó en el estudio (Tabla 1).

**Tabla 1:** *Timeline del proyecto (Elaboración propia).*

Visita 0	Visita 1	Visita 2	Fin del reclutamiento
Entrega y firma consentimiento informado	Evaluación severidad de la enfermedad: AV corregida, CV y OCT		Análisis de resultados
	Recogida de saliva	Recogida de saliva	
	Escalas de evaluación subjetivas de calidad del sueño: PSQI, ESS	Exploración oftalmológica completa	

## 7.8. Intervenciones:

- Determinación de severidad de la enfermedad:

- Agudeza visual (AV): se evaluó con el uso del optotipo ETDRS y la utilización de la escala logarítmica logMAR, teniendo en cuenta la mejor corrección refractiva del sujeto.

- Campo visual (CV): se valoró el índice de Desviación Media (DM) proporcionado por un campímetro Humphrey Field Analyzer (HFA, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA) con el empleo de la estrategia SITA (Swedish Interactive Threshold Algorithm) estándar 24-2.

- OCT: se valoró el volumen macular medio proporcionado por un Cirrus HD-OCT 5000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, EE.UU.).

- Determinación de calidad del sueño:

- Subjetiva:

Realizada mediante tests de evaluación validados como el PSQI y la ESS (Anexos 1 y 2). Ambos cuestionarios otorgan un valor numérico a cada respuesta posible de las 19 y 8 preguntas que respectivamente plantean, permitiendo clasificar al individuo en distintas categorías del estado que evalúan en función de la puntuación total obtenida. Entre los aspectos recogidos por el PSQI se incluyen los hábitos de sueño del sujeto a lo largo del último mes y la frecuencia con la que diversos trastornos suceden mientras duerme en el mismo intervalo de tiempo, indicando el resultado final obtenido si la calidad general de su sueño es buena (si la puntuación adquirida se encuentra por debajo de las 5 unidades) o pobre (en menor o mayor grado según se aproxime o distancie de las 5 unidades)<sup>67, 68</sup>. Por su parte, la ESS pretende medir el nivel de somnolencia del paciente en diferentes situaciones de la vida cotidiana. Para ello, el individuo califica la posibilidad de quedarse dormido en cada supuesto en una escala de 0 a 4 puntos. Resultados globales inferiores a 6 indican una somnolencia diurna ausente, mientras que valores superiores a 20 sugieren la existencia de una somnolencia diurna excesiva. Las puntuaciones situadas entre estos dos extremos se traducirían en una somnolencia diurna ligera (de encontrarse por debajo de las 14 unidades) o moderada (en el caso de alcanzar o superar dicha cifra)<sup>69, 70</sup>.



Dadas las limitaciones visuales presentadas por los pacientes, en ocasiones fue necesario cumplimentar tales cuestionarios con la ayuda del personal de Enfermería, encargado de dictarles las preguntas y de registrar las correspondientes respuestas. De forma previa a la anotación del dato, el sujeto fue nuevamente preguntado por su respuesta para así evitar un posible error en la comunicación.

- Objetiva:

Realizada mediante el análisis de dos muestras de melatonina salival separadas entre sí por un periodo de tiempo de 72 horas. Las muestras de saliva de los sujetos se recogieron por medio de la técnica de secreción pasiva denominada “de babeo” (Figura 2), por la cual al paciente se le pide depositar en un tubo específico de manera intermitente toda la saliva que fuese acumulando en la boca durante un periodo de tiempo de 5 minutos. La principal ventaja que ofrece este método en comparación con otros es que no estimula la secreción salivar, a cargo de las tres glándulas principales, por lo que la saliva producida es en representación de todas las glándulas. Al menos una hora antes de proporcionar la muestra, el individuo no debe comer, beber (salvo agua), realizar ejercicio físico intenso, cepillarse los dientes, mascar chicle o consumir tabaco o cafeína, pues esto podría afectar al resultado de los análisis. Para atenuar el impacto de otros condicionantes tales como la variabilidad circadiana sobre la concentración del producto a analizar ambas muestras se tomaron a la misma hora en cada individuo.



*Figura 2: Recogida de saliva por babeo.*

Antes de comenzar a depositar la saliva en el tubo, el paciente realizó un enjuague bucal con agua limpia durante 5 minutos para así evitar la posible contaminación de la muestra con restos de alimentos. De igual forma, debió tragar toda la saliva existente en su boca antes de iniciar el procedimiento de babeo. Se necesita 1 ml de saliva para poder realizar la determinación, sin embargo, en cada toma se recogieron hasta un máximo de 5 ml en función de la habilidad de cada paciente para suministrar la muestra (si este proporcionó los 5 ml antes de 5 minutos, el tiempo de recogida fue anotado). El flujo salivar de todos los sujetos se registró en su cuaderno de recogida de datos y fue valorado para la medida.

No se recogieron muestras de saliva cuando hubo indicios de enfermedad, inflamación o lesión en la boca. Cuando existió contaminación de la muestra por sangre visible, esta se descartó, se concedió un tiempo de espera de 10 minutos y se obtuvo una nueva muestra.

Las muestras obtenidas fueron almacenadas a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante un periodo de tiempo de una semana. Para intervalos de tiempo superiores, se congelaron a una temperatura de -20 °C. Cada muestra fue congelada, descongelada y centrifugada al menos una vez con el fin de separar las mucinas por centrifugación, desaconsejándose el congelado y descongelado repetidos. Una vez que las muestras llegaron al laboratorio, permanecieron en el congelador durante una noche. A la mañana siguiente, las muestras se calentaron hasta los 2-8 °C y fueron centrifugadas a 4000 xg durante unos 10 minutos.

Para la detección de los niveles de melatonina presentes en las muestras se empleó un kit Melatonin direct Saliva ELISA, inmunoensayo enzimático para la determinación directa y cuantitativa de la melatonina salival humana, de IBL International GmbH (Alemania).

El análisis de melatonina salival por tanto se basó en la técnica ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), que permite identificar inmunocomplejos por medio de enzimas unidas a un antígeno o anticuerpo a su vez adsorbido a un soporte sólido, normalmente una placa de poliestireno. Mediante este método, al añadir la muestra cualquier antígeno o anticuerpo presente en ella se unirá al correspondiente anticuerpo o antígeno de captura que se encuentre recubriendo la placa. La reacción antígeno-anticuerpo se detecta por la acción de una enzima que, conjugada químicamente al antígeno o anticuerpo, transforma un sustrato incoloro (tras añadirlo) en un producto coloreado cuyo color es proporcional a la cantidad de inmunocomplejos existentes <sup>71, 72</sup>.

### 7.9. Variables:

- Principal:

- Severidad de la enfermedad (RP): determinada en función de la AV mejor corregida alcanzada con el uso del optotipo ETDRS y la utilización de escala logarítmica logMAR, el valor de DM obtenido con un campímetro HFA al aplicar la estrategia SITA estándar 24-2, y el valor de volumen macular medio proporcionado por un Cirrus OCT-HD 5000. Se trata de una variable cuantitativa continua.

- Secundarias:

- Calidad del sueño: variable cuantitativa determinada en función de las puntuaciones adquiridas en las escalas subjetivas de evaluación de la calidad del sueño PSQI y ESS.
- Concentraciones de melatonina salival: nos encontramos ante otra variable cuantitativa.
- Variables socio-demográficas propias de los participantes: la edad sería una variable de naturaleza cuantitativa, mientras que el sexo constituiría una variable de tipo cualitativo.

### 7.10. Manejo de datos:

Los datos personales de los pacientes fueron tratados según el Reglamento UE 2016/679, del 27 de Abril, y su normativa en el ámbito tanto nacional como europeo, y su manejo, comunicación y cesión se ajustaron a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

La información que se obtuvo se almacenó en una base de datos en soporte informático en la que los datos registrados se trataron estadísticamente de forma codificada según el Número de Historia Clínica (NHC) de cada paciente (Ej: 35429-S1 constituiría el código de la primera muestra salival procedente del paciente con NHC 35429).

Dichos datos se guardaron de forma anónima para poder ser utilizados exclusivamente por el grupo del investigador principal en futuros estudios de investigación relacionados con la línea de trabajo propuesta, necesitándose la previa autorización del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) correspondiente para iniciar cualquier nuevo proyecto.

### 7.11. Clasificación:

La severidad de la enfermedad en los pacientes fue evaluada según la escala propuesta por Smith et al. en 2012<sup>73</sup>, que consta de los siguientes criterios:

- Pruebas clínicas: se valoraron en una escala de 0 a 4 puntos:
  - AV:  $\geq 75=0$ ; 66-74=1; 56-65=2; 46-55=3;  $\leq 45=4$
  - CV: DM (dB):  $\leq -15=0$ ; -15'1a-20=1; -20'1a-25=2; -25'1a-30=3;  $\geq -30=4$
  - OCT: volumen macular medio ( $\text{mm}^3$ ):  $\geq 9'7=0$ ; 9'6-9=1; 8'9-8'3=2; 8'2-7'6=3;  $\leq 7'5=4$
  
- Exploración oftalmológica: se valoraron en una escala de 0 a 2 puntos:
  - Grado de catarata: según la escala Lens Opacities Classification System (LOCS) III<sup>74</sup>.
  - Apariencia de nervio óptico.
  - Atrofia de retina.
  - Patología macular.

La clasificación final, consistente en la suma de las puntuaciones propias de los criterios clínicos y procedentes de la exploración oftalmológica, quedaría de la siguiente manera:

- RP leve: 0-3
- RP moderada: 4-7
- RP severa:  $\geq 8$

### 7.12. Análisis estadístico:

Método de estimación de los límites de referencia: si asumimos que la distribución de la melatonina es normal, el intervalo de referencia se estimaría utilizando el intervalo interfractílico, cuya expresión es:  $X^- \pm kS_X$ , donde  $X^-$  representa la media muestral,  $S_X$  la desviación estándar, y  $k$  el valor de la distribución normal para el nivel de probabilidad fijado (generalmente  $\alpha=0'05$ ). Los límites así estimados se corresponden con los fractiles 0'025 y 0'975. Para cada fractil es necesario calcular un intervalo de confianza. Fijando un nivel del 90%, se calcula este intervalo de confianza utilizando la expresión  $\text{fractil} \pm 2'81 S_X/\sqrt{n}$ , donde  $n$  es el tamaño de la muestra.

Estimación del tamaño muestral: los  $\alpha$  fractiles y  $1-\alpha$  fractiles no son estimables a menos que  $\alpha$  sea como mínimo del orden de  $1/n$ . De esta forma, la determinación paramétrica de los fractiles 0'025 y 0'975 requiere de al menos 40 individuos.

### 7.13. Consideraciones ético-legales:

De forma previa a la realización del estudio y en conformidad con la legalidad vigente se presentó un protocolo del proyecto de investigación a los organismos responsables de su autorización, en este caso, la Comisión de Investigación del IOBA y el CEIC del Área de Salud de Valladolid Este, el cual emitió un informe favorable del mismo el día 15 de Febrero del año 2018 (PI-GR-18-938 PI 17-732) (Anexo 3).

También se elaboró una hoja de información al paciente donde se les proporcionó a los candidatos una breve descripción del estudio en términos comprensibles, así como cierta información relevante en cuanto a la voluntariedad de su participación, la protección de sus datos de carácter personal o la posibilidad de revocar su decisión de formar parte de la investigación en el momento que considerasen (Anexo 4).

Una vez que los sujetos conocieron y aceptaron los términos y condiciones del proyecto, se aseguró su firma en el correspondiente consentimiento informado (Anexo 5). Durante el desarrollo del mismo, se trató a los participantes acorde con la Declaración de Helsinki, la Ley Orgánica 15/99 del 13 de Diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal y la Ley 14/2007 del 3 de Junio de Investigación Biomédica.

Tras la finalización del estudio, las muestras de saliva recolectadas se almacenaron en la colección de muestras del IOBA, dada de alta en el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), para su utilización en futuras investigaciones sobre biomarcadores, según el Real Decreto 1716/2011, del 18 de Noviembre, que establece los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de muestras biológicas de origen humano.

Este Trabajo de Fin de Máster, al tratarse de un estudio vinculado a una investigación de mayor magnitud en la que participé de forma activa, supuso por mi parte la firma de una cláusula de confidencialidad por la que legalmente me comprometí a no divulgar ningún tipo de información en relación a esta. (Anexo 6).

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Descripción de la muestra:

La muestra final del estudio la conformaron un total de 78 individuos, de los cuales 48 fueron varones (61'5%) y 30 mujeres (38'5%). La edad media de los participantes fue de  $51'59 \pm 13'4$  años, siendo el rango de edad comprendido desde los 17 hasta los 79 años (sólo faltaba un mes para que el único paciente de 17 años alcanzase la mayoría de edad, por lo que se decidió su inclusión en el estudio).

### 8.2. Severidad de la enfermedad:

Tras el análisis de los criterios requeridos para la clasificación de la severidad de la RP, de los 78 pacientes reclutados 2 resultaron ser leves (2'6%), 24 moderados (30'8%) y 52 severos (66'7%). Teniendo en cuenta que únicamente dos sujetos pertenecieron al grupo leve, por motivos de estadística se consideraron dos posibles estadios de la enfermedad: leve-moderado y severo (Tabla 2).

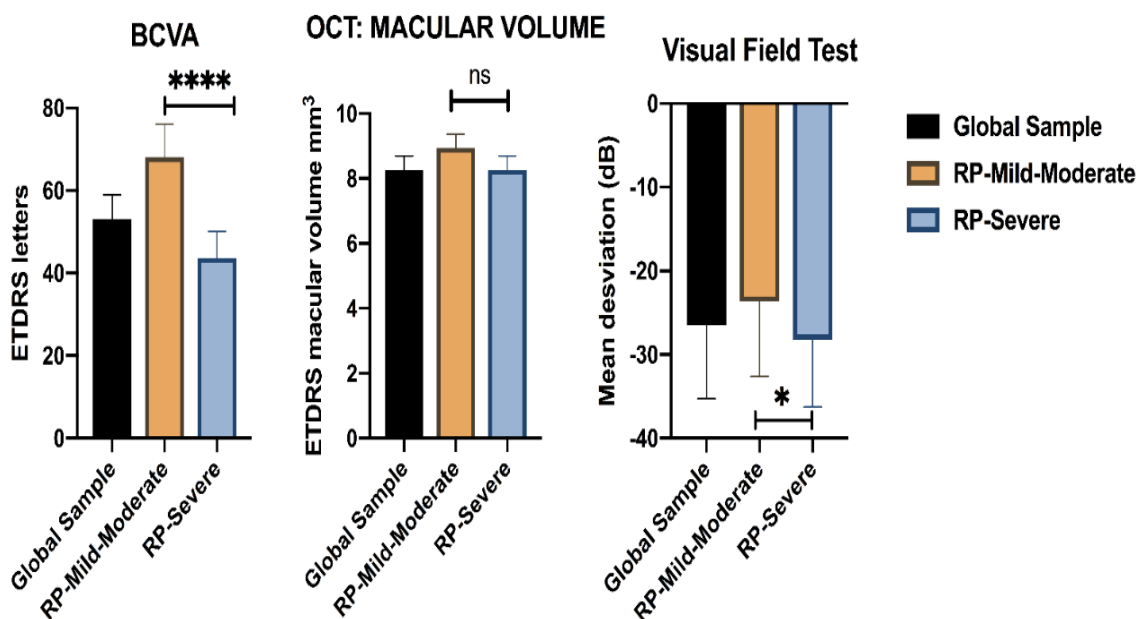
**Tabla 2:** Grado de severidad de la enfermedad (Elaboración propia).

Severidad RP	N	%	IC 95% Sup.	IC 95% Inf.
Leve-moderada	26	33'3	45'02	23'31
Severa	52	66'7	76'90	54'98
Total	78	100	.	.

### 8.3. Variables clínicas:

Se encontró una relación entre la severidad de la enfermedad y cada una de las medidas indicativas de gravedad que se evaluaron: AV ( $53'08 \pm 23'09$ ), DM ( $-26'51 \pm -8'78$  dB) y volumen macular medio ( $8'27 \pm 1'39$  mm<sup>3</sup>):  $p < 0'001$ ,  $0'001$  y  $0'048$  respectivamente, siendo las diferencias encontradas entre los grupos de severidad leve-moderado y severo estadísticamente significativas en el caso de la AV ( $p=0'0001$ ) y la DM ( $p=0'0273$ ) del CV y estadísticamente no significativas (al borde) en el caso del volumen macular medio determinado mediante OCT ( $p= 0'038$ ) (Figura 3).

**Figura 3:** Diferencias entre las medias de AV, CV y OCT según el grado de severidad de la RP



**Figura 3:** Diferencias entre las medias de AV, CV y OCT según grado de severidad de RP. Las barras representan las medias-intervalos de confianza al 95%. BCVA: Best Corrected Visual Acuity; OCT: Optical Coherence Tomography; \*\*\*\*  $< 0'0001$ ; \*  $< 0'05$ ; ns: no significance.

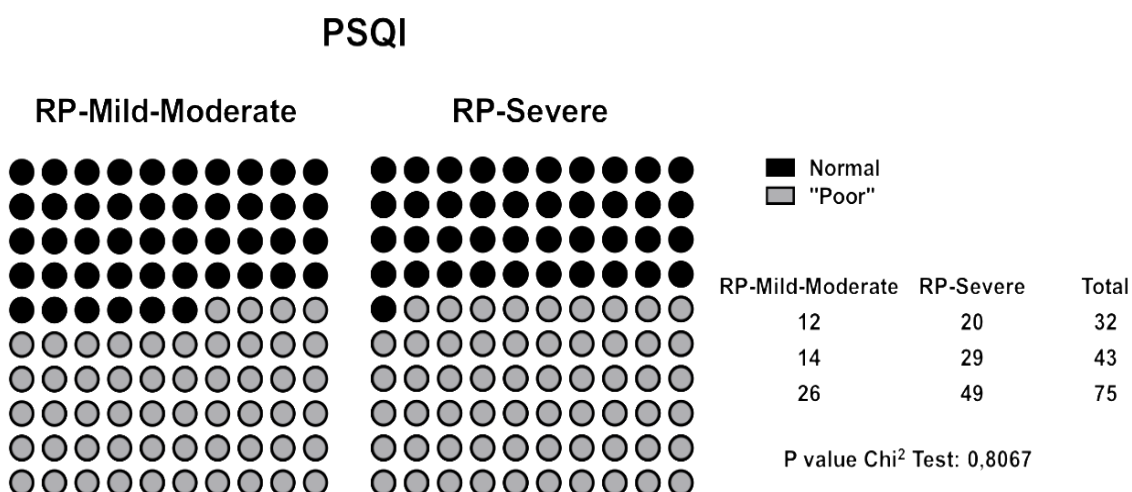
#### 8.4. Cuestionarios de calidad del sueño:

De acuerdo con el cuestionario PSQI, de los 26 pacientes que pertenecieron al grupo de RP leve-moderado, 12 tuvieron una calidad del sueño normal (46'15%) y 14 (53'85%) una calidad del sueño pobre, mientras que la calidad del sueño en el grupo de RP severo fue normal en 20 individuos (40'82%) y pobre en los 29 restantes (59'18%).

Por su parte, la somnolencia diurna de los sujetos, evaluada mediante la escala ESS, fue normal, ligera y moderada en 11 (42'3%), 12 (46'16%) y 3 (11'54%) de los 26 pacientes clasificados como RP de grado leve-moderado, mientras que en el grupo de RP de grado severo, resultó ser normal, ligera y moderada en 24 (48'98%) 20 (40'82%) y 5 (10'2%) individuos.

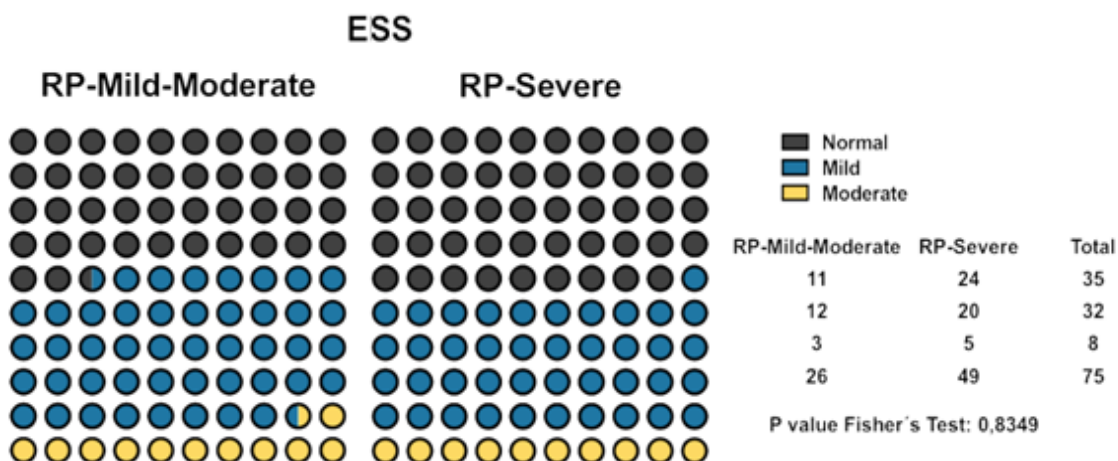
Tras el análisis estadístico de las puntuaciones obtenidas en los respectivos cuestionarios finalmente ni la calidad del sueño ni la somnolencia diurna de los pacientes se mostraron correlacionar de forma significativa con el grado de severidad de la RP: PSQI ( $p=0'806$ ) y ESS ( $p=0'834$ ) (Gráficos 1 y 2).

**Gráfico 1:** Clasificación de la calidad del sueño según el grado de severidad de la RP



**Gráfico 1:** Clasificación de calidad del sueño de los pacientes según grado de severidad de RP. Las casillas en color negro representan el número de individuos con calidad del sueño normal y las casillas en color gris representan el número de individuos con calidad del sueño pobre.

**Gráfico 2:** Clasificación de la somnolencia diurna según el grado de severidad de la RP



**Gráfico 2:** Clasificación de somnolencia diurna de los pacientes según grado de severidad RP. Las casillas en gris representan el número de individuos con somnolencia normal y las casillas en azul y amarillo representan el número de individuos con somnolencia ligera y moderada.

### 8.5. Concentraciones de melatonina salival:

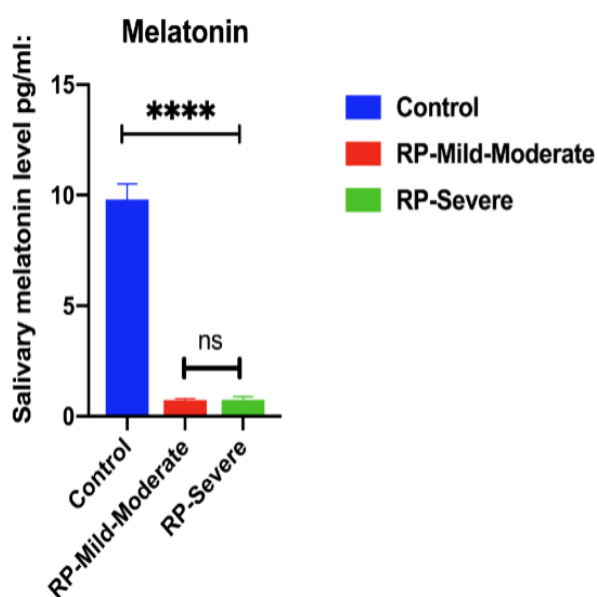
Para establecer la comparación entre el grado de severidad de la enfermedad y los niveles de melatonina salival analizados se consideró el valor de melatonina promedio resultante de las dos mediciones efectuadas, excepto en el caso de un paciente severo cuyo valor en la segunda sesión resultó tan elevado que fue necesario asumir el valor correspondiente al de la primera sesión como si se tratase del promedio.



Hubo que descartar tres muestras de saliva debido a que dos resultaron sanguinolentas y una insuficiente dada la existencia de una malformación en el paladar del individuo que dificultó la técnica de secreción salival. Estos tres sujetos fueron excluidos de la muestra para este análisis en concreto, siendo por tanto el porcentaje de pérdidas en relación a las muestras del 3'85%.

Los niveles de melatonina salival de los pacientes con RP ( $0'74 \pm 0'41$  pg/ml) difirieron significativamente con respecto los del grupo control que fue utilizado ( $9'8 \pm 1'9$  pg/ml) ( $p < 0'0001$ ), sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones procedentes de los dos grupos de severidad de la enfermedad: leve-moderado ( $0'73 \pm 0'19$ ) y severo ( $0'75 \pm 0'49$ ) (Gráfico 3).

**Gráfico 3:** Valores medios de melatonina salival en grupo control y grupos de severidad de RP



**Gráfico 3:** Valores medios de melatonina salival en grupo control y grupos de severidad de RP. Las barras representan las medias-intervalos de confianza al 95% de los valores de melatonina salival en el grupo control y los grupos de severidad de RP. \*\*\*\*  $< 0.0001$ ; ns: no significance. Para establecer la comparación se utilizó el test ANOVA (ANalysis Of Variance) con un factor.

#### 8.6. Relación melatonina - cuestionarios:

Tampoco se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de melatonina salival analizados y las puntuaciones obtenidas en las escalas de evaluación subjetivas de la calidad del sueño: PSQI ( $p = 0'428$ ) y ESS ( $p = 0'633$ ).

### 8.7. Variables socio-demográficas:

Atendiendo a las variables socio-demográficas de los participantes, la edad supuso ser un factor de riesgo en cuanto a la gravedad de la patología: en términos de Odds Ratio (OR) el riesgo de padecer la forma severa de la RP se incrementa 1'04 veces por cada año que aumenta la edad del paciente: OR = 1'04, Intervalos de Confianza (IC) 95% = 1'00-1'08.

Por su parte, el sexo no demostró ser una variable socio-demográfica asociada de forma estadísticamente significativa con la gravedad de la enfermedad.

### 8.8. Variabilidad inter-sesión:

En cuanto a la repetibilidad de los valores obtenidos en las dos diferentes sesiones ( $0'755 \pm 0'179$  en s1 y  $0'725 \pm 0'698$  en s2), el Coeficiente de Correlación Intraclassa calculado (CCI=0'471) indicó la existencia de un acuerdo moderado entre ambas medidas según la escala de interpretación propuesta por Landis y Koch <sup>75</sup> (Tabla 3).

**Tabla 3:** Escala de interpretación de Landis y Koch <sup>75</sup>.

Valor	Grado de acuerdo
0	Pobre
0'01-0'20	Leve
0'21-0'40	Regular
0'41-0'60	Moderado
0'61-0'80	Substancial
0'81-1'00	Casi perfecto

## **9. DISCUSIÓN**

Al igual que en estudios publicados previamente<sup>42, 43</sup>, se observó una calidad del sueño pobre determinada en base al cuestionario PSQI en la mayoría de los pacientes afectados por la RP (56'58%). La somnolencia diurna de los mismos, evaluada en base a la escala ESS, probablemente se vió alterada en menor medida debido al alto grado de estrés que causa el padecimiento de la enfermedad o sus repercusiones visuales y funcionales sobre estos individuos<sup>76, 77</sup>, el cual activa el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal y el sistema nervioso simpático induciendo la liberación de diferentes hormonas y neurotransmisores relacionados con la atención y la excitación<sup>78, 79, 80</sup>.

La presente investigación también coincide con anteriores artículos en cuanto al patrón de secreción de melatonina alterado que presentan esta clase de pacientes con respecto a un grupo control de referencia<sup>81, 82</sup>, si bien en estos estudios, la determinación directa de los niveles de melatonina se realizó en muestras de sangre u orina y no de saliva.

Por el contrario, otros estudios que se proponen correlacionar los niveles de melatonina salival con la calidad del sueño o la afectación de diversas patologías, en vez de obtener una única muestra de saliva al día, realizan varias mediciones, habitualmente de noche, para así poder determinar la curva de secreción de dicha sustancia<sup>83, 84, 85</sup>. Sin embargo, esto en este estudio no se hizo porque hubiese supuesto un esfuerzo excesivo por parte de los pacientes, que en muchas ocasiones tuvieron que desplazarse al centro procedentes de otras ciudades, a parte de que lo que se pretendió fue establecer una relación puntual entre los niveles de melatonina salival y los resultados adquiridos en los tests subjetivos de evaluación de la calidad del sueño en ese momento.

Dada la ausencia de artículos cuyo propósito fue establecer la relación existente entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la RP, esta comparación no pudo efectuarse. Lo mismo sucedió cuando intentó compararse el estudio con investigaciones que tratasen de determinar la potencial aplicabilidad de la melatonina salival como indicador objetivo de la calidad del sueño en este grupo de pacientes.

Igualmente, se objetivó un número reducido de estudios que abordasen en su contenido el efecto de las variables socio-demográficas edad y sexo sobre la severidad de la RP<sup>86</sup>.

### 9.1. Limitaciones y fortalezas del estudio:

El punto fuerte del presente trabajo reside en la novedad de la temática abordada, ya que en el pasado ningún otro estudio había propuesto establecer una relación entre la calidad del sueño y el grado de severidad de la RP, ni estudiar la aplicabilidad de la melatonina como indicador objetivo de la calidad del sueño en esta clase de pacientes.

En contraposición, sus limitaciones se derivan del reducido tamaño muestral empleado (insuficiente para algunos análisis), la escasez de sujetos con un grado de severidad de la enfermedad leve y la necesidad de estudios independientes para la validación externa de todas las asociaciones realizadas.

### 9.2. Aplicabilidad a la práctica clínica:

Este Trabajo de Fin de Máster evidencia los reducidos niveles de melatonina salival que presentan los sujetos afectados por RP en comparación con la población sana, así como la destacable incidencia con la que las alteraciones de la calidad del sueño se dan en este grupo de pacientes, lo que pone de manifiesto que estos dos factores sean considerados por parte del personal sanitario a la hora de atender a estos individuos en las consultas o evaluar la eficacia de diferentes opciones terapéuticas en ensayos clínicos controlados.

La clasificación de la calidad del sueño empleada en la metodología junto con el análisis de los niveles de melatonina salival de este colectivo podría servir además para detectar a aquellos pacientes más necesitados de apoyo e incluirles en la práctica de terapias que orienten a estos sujetos a la consecución de una mejor gestión del sueño para mejorar de este modo su calidad de vida.

### 9.3. Futuras líneas de investigación:

De cara al futuro podría contemplarse la realización de otro estudio de investigación que intentase establecer una asociación entre los niveles de melatonina salival analizados en las muestras de los participantes y el grosor existente en su capa de células ganglionares de la retina (determinado mediante OCT), debido a la estrecha relación que guardan las ipRGCs con la regulación del ritmo circadiano <sup>22, 23</sup>.

## **10. CONCLUSIONES**

La calidad del sueño determinada a través de los tests de evaluación subjetivos PSQI y ESS no es un factor que influya de forma significativa en el grado de severidad de la RP en el presente estudio.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de melatonina salival del grupo control y los niveles de melatonina salival de los pacientes con RP, sin embargo, estos no demostraron asociarse con el grado de severidad de la enfermedad.

Los niveles de melatonina salival analizados tampoco mostraron correlacionarse con las puntuaciones obtenidas por parte de los pacientes en las escalas subjetivas de evaluación de la calidad del sueño.

La edad de los participantes resultó un factor de riesgo para el padecimiento de la forma severa de la enfermedad, mientras que el sexo no se relacionó de forma estadísticamente significativa con esta.

La repetibilidad intersesión de los valores de melatonina salival analizados en este grupo de pacientes fue moderada, por lo tanto, se requieren estudios de validación externa para verificar si la melatonina podría ser un buen biomarcador para monitorizar la progresión de la enfermedad o evaluar la calidad del sueño en esta clase de pacientes.

## **11. BIBLIOGRAFÍA**

1. U.S. National Library of Medicine. Genetics Home Reference: Retinitis Pigmentosa. National Institutes of Health. [Internet] [Consultado el 1 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/retinitis-pigmentosa>
2. National Center for Advancing Translational Sciences. Genetic and Rare Diseases Information Center: Retinitis Pigmentosa. National Institutes of Health. U.S. Department of Health & Human Services. [Internet] [Consultado el 2 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/5694/retinitis-pigmentosa>
3. American Foundation for the Blind. Retinitis Pigmentosa. [Internet] [Consultado el 2 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.afb.org/info/specific-eye-conditions/retinitis-pigmentosa-4013/45>
4. National Eye Institute. Facts About Retinitis Pigmentosa: How does RP progress? National Institutes of Health. [Internet] [Consultado el 3 de Enero del 2019]. Disponible en: [https://nei.nih.gov/health/pigmentosa/pigmentosa\\_facts](https://nei.nih.gov/health/pigmentosa/pigmentosa_facts)
5. Parmeggiani, F. Clinics, Epidemiology and Genetics of Retinitis Pigmentosa. Current Genomics. 2011; 12(4):236-37 [Internet] [Consultado el 4 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3131730/>
6. Chizzolini, M., Galan, A., Milan, E., Sebastiani, A., Costagliola, C., Parmeggiani, F. Good epidemiologic practice in Retinosis Pigmentaria: from phenotyping to biobanking. Current Genomics. 2011; 12(4): 260-266. [Internet] [Consultado el 4 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3131733/>
7. FARPE: Federación de Asociaciones de Distrofias Hereditarias de Retina de España. Distrofias de Retina. 2013. [Internet] [Consultado el 5 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.retinosisfarpe.org/distrofias-de-retina.html>
8. Abraldes, M.J., Ayuso, C., Casaroli, R.P., Coco, R.M., Díaz, J. et al. Guía de Práctica Clínica para las Distrofias Hereditarias de Retina. [Internet] [Consultado el 7 de Enero del 2019]. Disponible en: [http://portal.guiasalud.es/GPC/GPC\\_565\\_DHR\\_SESCS\\_compl.pdf](http://portal.guiasalud.es/GPC/GPC_565_DHR_SESCS_compl.pdf)

9. Ferrari, S., Di Iorio, E. et al. Retinitis Pigmentosa: Genes and Disease Mechanisms. *Current Genomics*. 2011; 12(4): 260-266. [Internet] [Consultado el 8 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3131731/>
10. Ali, M.U., Rahman, M.S.U. et al. Genetic characterization and disease mechanism of retinitis pigmentosa; current scenario. *3 Biotech*. 2017; 7(4): 251. [Internet] [Consultado el 8 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28721681>
11. Ayuso, C., García Sandoval, B., Najera, C., Valverde, D., Carballo, M. et al. Retinitis pigmentosa in Spain. *Clinical Genetics* 1995; 48(3):120-122 [Internet] [Consultado el 9 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8556816>
12. Discapnet: El Portal de las Personas con Discapacidad. Retinosis Pigmentaria. [Internet] [Consultado el 10 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.discapnet.es/areas-tematicas/salud/enfermedades/enfermedades-discapacitantes/retinosis-pigmentaria>
13. National Human Genome Research Institute. Learning About Retinitis Pigmentosa. National Institutes of Health. [Internet] [Consultado el 10 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.genome.gov/13514348/>
14. Boyd, K. Retinitis Pigmentosa Symptoms. American Academy of Ophthalmology. [Internet] [Consultado el 11 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.aaopt.org/eye-health/diseases/retinitis-pigmentosa-symptoms>
15. Asociación de Afectados de Retinosis Pigmentaria de Euskadi (A.A.R.P.E.). ¿Qué es la Retinosis Pigmentaria? [Internet] [Consultado el 11 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.retinosispigmentaria.org/es/retinosis1.html>
16. American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus. Retinitis Pigmentosa: How does the disease progress? [Internet] [Consultado el 11 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://aapos.org/terms/conditions/92>
17. Hamel, C. Retinitis Pigmentosa. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. BioMed Central: The Open Access Publisher. 2006; 1(1): 40. [Internet] [Consultado el 12 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-1-40>

- 18.** Shintani, K., Shechtman, D.L., Gurwood, A.S. Review and update: current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa. *Optometry: Journal of American Optometry Association*. 2009; 80(7): 384-401. [Internet] [Consultado el 13 Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19545852>
- 19.** Lin, M.K., Tsai, Y., Tsang, S.H. Emerging treatments for retinitis pigmentosa: Genes and stem cells, as well as new electronic and medical therapies, are gaining ground. *Retinal Physician*. 2015; 12: 52-70. [Internet] [Consultado el 13 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4617761/>
- 20.** Dias, M.F., Joo, K., Kemp, J.A. et al. Molecular Genetics and Emerging Therapies for Retinitis Pigmentosa: Basic Research and Clinical Perspectives. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2018; 63: 107-131. [Internet] [Consultado el 13 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29097191>
- 21.** Sierra, J.C, Jiménez, C. et al. Calidad del sueño en estudiantes universitarios: importancia de la higiene del sueño. *Salud Mental*. 2002; 25(6): 35-43. [Internet] [Consultado el 15 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.inprf-cd.gob.mx/pdf/sm2506/sm250635.pdf>
- 22.** Paul, K.N. et al. The role of retinal photoreceptors in the regulation of circadian rhythms. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. 2009; 10(4): 271-278. [Internet] [Consultado el 18 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19777353>
- 23.** Berson, D.M., Dunn, F.A., Takao, M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*. 2002; 295(5557):1070-1073. [Internet] [Consultado el 18 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11834835>
- 24.** Díaz, N.M. et al. Melanopsin and the nonvisual photochemistry in the inner retina of vertebrates. *Photochemistry and Photobiology*. 2016; 92(1): 29-44 [Internet] [Consultado el 20 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26500165>
- 25.** Claustrat, B., Geoffriau, M., Brun, J., Chazot, G. Melatonin in humans: a biochemical marker of the circadian clock and a endogenous synchronizer. *Neurophysiologie Clinique*. 1995; 25(6): 351-359 [Internet] Consultado el 21 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8904197>



- 26.** Mirick, D.K., Davis, S. Melatonin as a Biomarker of Circadian Dysregulation. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2008; 17(12): 3306-3313. [Internet] [Consultado el 20 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19064543>
- 27.** Costello, R.B. et al. The effectiveness of melatonin for promoting healthy sleep: a rapid evidence assessment of the literature. *Nutrition Journal*. 2014;13:106. [Internet] [Consultado el 22 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25380732>
- 28.** Ferracioli-Oda, E., Qawasmi, A., Bloch, M.H. Meta-analysis: melatonin for the treatment of primary sleep disorders. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63773. [Internet] [Consultado el 22 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23691095/>
- 29.** Buscemi, N., Vandermer, B., Hoton, N., Pandya, R., Tjosvold, L, Hartling, L. et al. The efficacy and safety of exogenous melatonin for primary sleep disorders. A meta-analysis. *Journal of General Internal Medicine*. 2005; 20(12): 1151-8. [Internet] [Consultado el 22 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16423108>
- 30.** Brown, G.M., Pandi-Perumal, S.R., Trakht, I. et al. Melatonin and its relevance to jet lag. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2009; 7(2): 69-81. [Internet] [Consultado el 23 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19237140>
- 31.** Reiter, R.J., Tan, D.X. et al. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *Journal of Biomedical Science*. 2000; 7(6): 444-458. [Internet] [Consultado el 24 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11060493>
- 32.** Yan, G., Yu, L. et al. Melatonin antagonizes oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction in retinal pigmented epithelium cells via melatonin receptor 1 (MT1). *The Journal of Toxicological Sciences*. 2018; 43(11): 659-669. [Internet] [Consultado el 24 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30404999>
- 33.** Chang, C.C., Huang, T.Y., Chen, H.Y., Huang, T.C., Lin, L.C., Chang, Y.J., Hsia, S.M. Protective Effect of Melatonin against Oxidative Stress-Induced Apoptosis and Enhanced Autophagy in Human Retinal Pigment Epithelium Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018: 9015765. [Internet] [Consultado el 24 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11060493>

- 34.** Liang, F.Q., Aleman, T.S. et al. Melatonin delays photoreceptor degeneration in the rds/rds mouse. *NeuroReport*. 2001; 12(5): 1011-4. [Internet] [Consultado el 25 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11303736>
- 35.** Xu, X.J., Wang, S.M., Jin, Y., Hu, Y.T., Feng, K. et al. Melatonin delays photoreceptor degeneration in a mouse model of autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Journal of Pineal Research*. 2017; 63(3); 1-12. [Internet] [Consultado el 25 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28580724>
- 36.** Fuentes, L., Perdices, L., Segura, F., Lara, E., Orduna, E., Insa, G., Sánchez, A.I., Pinilla, I. Efecto protector de la melatonina en la degeneración de la retina. *Revista Visión*. 2016; 48(1); 17-24. [Internet] [Consultado el 26 de Enero del 2019]. Disponible en: [https://zagan.unizar.es/record/61349/files/texto\\_completo.pdf](https://zagan.unizar.es/record/61349/files/texto_completo.pdf)
- 37.** Krističević, T., Štefan, L. et al. The Associations between Sleep Duration and Sleep Quality with Body-Mass Index in a Large Sample of Young Adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018; 15(4): 758. [Internet] [Consultado el 27 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28579842>
- 38.** Briançon-Marjollet, A., Weiszenstein, M., Henri, M., Thomas, A. Godin-Ribuot, D., Polak, J. The impact of sleep disorders on glucose metabolism: endocrine and molecular mechanisms. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2015; 7: 25. [Internet] [Consultado el 27 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25834642>
- 39.** Lo, K., Woo, B. et al. Subjective sleep quality, blood pressure and hypertension: a meta-analysis. *Journal of Clinical Hypertension*. 2018; 20(3): 592-605. [Internet] [Consultado el 27 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29457339>
- 40.** Spira, A.P., Chen, L.P., Wu, M.N. et al. Impact of sleep on the risk of cognitive decline and dementia. *Current Opinion in Psychiatry*. 2014; 27(6): 478-483. [Internet] [Consultado el 27 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25188896>
- 41.** Ionescu, D., Driver, H.S. et al. Sleep and daytime sleepiness in retinitis pigmentosa patients. *Journal of Sleep Research*. 2001; 10(4): 329-335. [Internet] [Consultado el 28 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11903863>

- 42.** Gordo, M.A., Recio, J., Sánchez, E.J. Decreased sleep quality in patients suffering from retinitis pigmentosa. *Journal of Sleep Research*. 2001; 10(2): 159-64. [Internet] [Consultado el 28 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11422730>
- 43.** Lomelí, H.A., Pérez Olmos, I., Talero Gutiérrez, C., Moreno, C.B., González Reyes, R., Palacios, L., de la Peña, F. et al. Sleep evaluation scales and questionnaires: a review. *Actas Españolas de Psiquiatría*. 2008; 36(1): 50-9. [Internet] [Consultado el 29 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18286400>
- 44.** Jasim, H., Carlsson, A., et al. Saliva as a medium to detect and measure biomarkers related to pain. *Scientific Reports*. 2018; 8(1): 3220. [Internet] [Consultado el 30 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5818517/>
- 45.** Niki, E., Yoshida, Y. Biomarkers for oxidative stress: measurement, validation and application. *The Journal of Medical Investigation*. 2005; 52: 228-230. [Internet] [Consultado el 30 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16366503>
- 46.** Noto, Y., Sato, T., Kudo, M., Kurata, K., Hirota, K. The relationship between salivary biomarkers and state-trait anxiety inventory score under mental arithmetic stress: a pilot study. *Anesthesia and Analgesia*. 2005; 101(6): 1873-1876. [Internet] [Consultado el 30 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16301277>
- 47.** Voultzios, A., Kennaway, D.J., Dawsont, D. Salivary Melatonin as a Circadian Phase Marker: Validation and Comparison to Plasma Melatonin. *Journal of Biological Rhythms*. 1997; 12(5): 457-466. [Internet] [Consultado el 31 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9376644>
- 48.** Kennaway, D.J. et al. Circadian rhythm of free melatonin in human plasma. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; 83(3): 1013-1015. [Internet]. [Consultado el 2 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9506765>
- 49.** Shenshen, Y., Minshu, W., Qing, Y., Yang, L., Suodi, Z., Wei, W. The effect of cataract surgery on salivary melatonin and sleep quality in aging people. *Cronobiology International*. 2016; 33(8): 1064-1072. [Internet] [Consultado el 2 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27384816>

- 50.** Papaioannou, I. et al. Melatonin concentration as a marker of circadian phase in patients with obstructive sleep apnoea. *Sleep Medicine*. 2012; 13(2): 167-171. [Internet] [Consultado el 2 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22206710>
- 51.** Nováková, M., Paclt, I., Ptáček, R. et al. Salivary melatonin rhythm as a marker of the circadian system in healthy children and those with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Chronobiology International*. 2011; 28(7): 630-637. [Internet] [Consultado el 3 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21859418>
- 52.** Sundberg, I., Ramklint, M. et al. Salivary melatonin in relation to depressive symptom severity in young adults. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0152814. [Internet] [Consultado el 3 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27042858>
- 53.** Chang, W.P., Lin, C.C. Relationships of salivary cortisol and melatonin rhythms to sleep quality, emotion, and fatigue levels in patients with newly diagnosed lung cancer. *European Journal of Oncology Nursing*. 2017; 29: 79-84. [Internet] [Consultado el 3 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28720269>
- 54.** Nogueira, L.M., Sampson, J.N., Chu, L.W., Yu, K., Andriole, G., Church, T., Stanczyk, F.Z., Koshiol, J. Individual variations in serum melatonin levels through time: implications for epidemiologic studies. *PLoS One*. 2013; 8(12): e83208. [Internet] [Consultado el 5 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24376664>
- 55.** Burgess, H.J., Fogg, L.F. Individual differences in the amount and timing of salivary melatonin secretion. *PLoS One*. 2008;3(8):e3055. [Internet] [Consultado el 5 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18725972>
- 56.** Carlson, L.A., Pobocik, K.M., Lawrence, M.A., Brazeau, D.A. Influence of exercise time of day on salivary melatonin responses. *International Journal of Sports Physiology & Performance*. 2019; 14(3): 351-353. [Internet] [Consultado el 6 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30160559>
- 57.** Morera, A.L. et al. Seasonality of psychopathology and circannual melatonin rhythm. *Journal of Pineal Research*. 2006; 41(3): 279-83. [Internet] [Consultado el 6 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16948790>

- 58.** Ursing, C., von Bahr, C. et al. Influence of cigarette smoking on melatonin levels in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2005; 61(3): 197-201. [Internet] [Consultado el 7 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15824912>
- 59.** Hsing, A.W., Meyer, T.E. et al. Measuring serum melatonin in epidemiologic studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2010; 19(4): 932-7. [Internet] [Consultado el 8 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20332275>
- 60.** Lynch, H.J. et al. The circadian rhythm of plasma melatonin during the normal menstrual cycle and in amenorrheic women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1988; 66(5): 891-895. [Internet] [Consultado el 10 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3129448>
- 61.** Brzezinski, A., Lynch, H.J. et al. The circadian rhythm of plasma melatonin during the normal menstrual cycle and in amenorrheic women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1988; 66(5): 891-895. [Internet] [Consultado el 10 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3129448>
- 62.** Gunn, P.J., Middleton, B., Davies, S.K., Revell, V.L., Skene, D.J. Sex differences in the circadian profiles of melatonin and cortisol in plasma and urine matrices under constant routine conditions. *Chronobiology International*. 2016; 33(1): 39-50. [Internet] [Consultado el 11 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26731571>
- 63.** Kin, N.M. et al. Secretion of melatonin in healthy elderly subjects: a longitudinal study. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004; 1019: 326-9. [Internet] [Consultado el 12 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15247037>
- 64.** Zhou, J.N., Liu, R.Y., van Heerikhuize, J., Hofman, M.A., Swaab, D.F. Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *Journal of Pineal Research*. 2003; 34: 11-16. [Internet] [Consultado el 12 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12485366>
- 65.** Zeitzer, J.M., Daniels, J.E. et al. Do plasma melatonin concentrations decline with age? *The American Journal of Medicine*. 1999; 107(5): 432-436 [Internet] [Consultado el 12 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10569297>

- 66.** Abdolsamadi, H., Goodarzi, M.T. et al. Reduction of melatonin level in patients with type II diabetes and periodontal diseases. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2014; 8(3): 160-5. [Internet] [Consultado el 15 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4206758/>
- 67.** Buysse, D.J., Reynolds, C.F., Monk, T.H., Berman, S.R., Kupfer, D.J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research* 1989; 28(2): 193-213. [Internet] [Consultado el 21 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5294376/>
- 68.** Mollayeva, T., Thurairajah, P., Burton, K. et al. The Pittsburgh sleep quality index as a screening tool for sleep dysfunction in clinical and non-clinical samples: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*. 2006; 25: 52-73. [Internet] [Consultado el 21 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26163057>
- 69.** Johns, M.W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*. 1991;14(6):540-5. [Internet] [Consultado el 22 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1798888>
- 70.** Herzog, M., Bedorf, A., Rohrmeier, C., Kühnel, T., Herzog, B. et al. Circadian rhythm: Influence on Epworth Sleepiness Scale score. 2017; 65(2): 154-162. [Internet] [Consultado el 22 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27882399>
- 71.** Bulletin of the World Health Organization. The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). 1976; 54(2): 129-139. [Internet] [Consultado el 25 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2366430/pdf/bullwho00453-0009.pdf>
- 72.** Middleton, B. Measurement of melatonin and 6-sulphatoxymelatonin. *Methods in Mol. Biology*. 2013; 1065: 171-199. [Internet] [Consultado el 25 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23996364>
- 73.** Smith, H.B., Chandra, A., Zambarakji, H. Grading severity in retinitis pigmentosa using clinical assessment, visual acuity, perimetry and optical coherence tomography. *International Ophthalmology*. 2013; 33(3): 237-244. [Internet] [Consultado el 28 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23160825>

- 74.** Chylack, L.T., Wolfe, J.K., Singer, D.M., Leske, M.C., Bullimore, M.A., Bailey, I.L. et al. The Lens Opacities Classification System III: The Longitudinal Study of Cataract Study Group. *Archives of Ophthalmology*. 1993; 111(6): 831-836. [Internet] [Consultado el 28 de Marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8512486>
- 75.** Mandeville, P.B. Tips Bioestadísticos: Tema 9: El Coeficiente de correlación intraclase (CIC). *Ciencia UANL*. 2005; 3(3): 414-416. [Internet] [Consultado el 5 de Mayo del 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/402/40280322.pdf>
- 76.** Latham, K., Baranian, M., et al. Emotional Health of People with Visual Impairment Caused by Retinitis Pigmentosa. *PLoS One*. 2015; 10(12). [Internet] [Consultado el 8 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4705104/>
- 77.** Bittner A., Smith M., Haythornthwaite J. et al. Increased Salivary Cortisol Social Stress Reactivity in Retinitis Pigmentosa vs Normally-sighted Healthy Controls. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011; 52(14): 5557. [Internet] [Consultado el 8 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2361613>
- 81.** Tsigos, C., Chrousos, G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*. [Internet] [Consultado el 10 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377295>
- 80.** Herman J.P., Figueiredo, H. et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2003; 24(3): 151-180. [Internet] [Consultado el 10 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14596810>
- 81.** Dunn, A.J., Swiergiel, A.H., Palamarchouk, V. Brain circuits involved in corticotropin-releasing factor-norepinephrine interaction during stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004; 1018: 25-34. [Internet] [Consultado el 11 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11215156>
- 82.** Banaś, I., Buntner, B., Niebrój, T. et al. Levels of melatonin in serum of patients with retinitis pigmentosa. *Klinika Oczna*. 1995; 97(11-12): 321-323 [Internet] [Consultado el 12 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8622288>

- 83.** Lockley, S.W., Skene, D.J., Arendt, J., Tabandeh, H. et al. Relationship between melatonin rhythms and visual loss in the blind. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1997; 82(11): 3763-3770. [Internet] [Consultado el 12 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/82/11/3763/2866063>
- 84.** Lewy, A. Clinical Implications of the Melatonin Phase Response Curve. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2010; 95(7): 3158-3160. [Internet] [Consultado el 14 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20610608>
- 85.** Aoki, M., Yokota, Y., Hayashi, T., Kuze, B., Murai, M., Mizuta, K., Ito, Y. Disorder of the saliva melatonin circadian rhythm in patients with Meniere's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2006; 113(4): 256-261. [Internet] [Consultado el 15 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16542165>
- 86.** Ostrowska, Z., Kos-Kudla, B. et al. Assessment of the relationship between circadian variations of salivary melatonin levels and type I collagen metabolism in postmenopausal obese women. *Neuroendocrinology Letters*. 2011; 22(2): 121-7. [Internet] [Consultado el 16 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953482>
- 86.** Onakpoya, O.H., Adeoti, C.O., Oluleye, T.S., Ajayi, I.A. et al. Clinical presentation and visual status of retinitis pigmentosa patients: a multicenter study in southwestern Nigeria. *Clinical Ophthalmology*. 2016;10:1579-83. [Internet] [Consultado el 20 de Mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27601870>



## **12. ANEXOS**

### 11.1. Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI):

#### **Índice de Calidad del Sueño de Pittsburgh:**

1. Durante el último mes, ¿A qué hora se ha acostado habitualmente? [hora]
2. Durante el último mes, ¿Aproximadamente cuánto tiempo le lleva quedarse dormido después de acostarse? [minutos]
3. Durante el último mes, ¿A qué hora se ha levantado por la mañana? [hora]
4. Durante el último mes, ¿Cuántas horas duerme realmente cada noche en promedio? El tiempo dormido puede ser diferente del tiempo pasado en la cama. [hora]
5. Durante el último mes, ¿con qué frecuencia ha tenido problemas de sueño por alguna de las siguientes causas? Indique la respuesta correcta o más aproximada para cada una de las preguntas. Por favor, procure responder a todas las preguntas donde aparezca un espacio entre corchetes “[ ]”.

a) No poder dormirse en la primera media hora tras acostarse:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

b) Despertarse a media noche o temprano por la mañana:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

c) Tener que levantarse para ir al baño:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

d) Tener dificultades para respirar:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

e) Toser o roncar muy alto:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

f) Sentir demasiado frío:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

g) Sentir demasiado calor:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

h) Tener pesadillas:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

i) Sentir dolor:

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

j) Otras razones (por favor especificar e indicar con qué frecuencia):

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

6. Durante el último mes, ¿Cómo describiría la calidad de su sueño en general?

- Muy buena
- Bastante buena
- Bastante mala
- Muy mala

7. En el último mes, ¿Con qué frecuencia ha tomado medicinas o remedios para dormir?

- Nunca en el último mes
  - Menos de una vez a la semana
  - Una o dos veces a la semana
  - Tres o más veces a la semana
- [Indicar qué tomó]

8. En el último mes, ¿Con qué frecuencia ha tenido problemas para mantenerse despierto durante el día, por ejemplo tras la comida, mientras conducía o en otros momentos del día?

- Nunca en el último mes
- Menos de una vez a la semana
- Una o dos veces a la semana
- Tres o más veces a la semana

9. En el último mes, ¿Ha sentido falta de entusiasmo o energía para realizar sus actividades habituales?

- En absoluto
- Ligeramente
- Bastante
- Muchísima

## 11.2. Epworth Sleepiness Scale (ESS):

### **Escala de Somnolencia de Epworth:**

Sentado y leyendo:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Viendo la TV:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Sentado, inactivo en un lugar público (ej: cine, teatro, conferencia, etc.):

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Como pasajero de un coche en un viaje de 1 hora sin paradas:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Estirado para descansar al mediodía cuando las circunstancias lo permiten:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Sentado y hablando con otra persona:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

Sentado tranquilamente después de una comida sin alcohol:

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

En un coche, estando parado por el tránsito unos minutos (ej: semáforo, retención...):

- Nunca tengo sueño
- Ligera probabilidad de tener sueño
- Moderada probabilidad de tener sueño
- Alta probabilidad de tener sueño

#### 11.4. Hoja de información al paciente:

### **HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Evaluación de la repetitividad de biomarcadores de estrés en pacientes con Distrofias Hereditarias de Retina, principalmente Retinosis Pigmentaria.

**CÓDIGO DEL PROMOTOR:** PI 17-732

**PROMOTOR:** Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Salvador Pastor Idoate

**CENTRO:** Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid.

#### **INTRODUCCION:**

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Este (Hospital Clínico Universitario de Valladolid), de acuerdo la legislación vigente. Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en el estudio. Para ello, lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir tras la lectura. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

#### **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:**

Debe saber que su participación en este estudio es totalmente voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento.

#### **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:**

El objetivo del estudio es analizar la repetitividad interindividual de biomarcadores de estrés crónico e inflamación mediante muestras de saliva, lágrima y cabello. Para ello, se formarán dos grupos, uno de pacientes con Retinosis Pigmentaria (RP) y Distrofias Hereditarias de la Retina (DHR), y otro de individuos sanos, en rangos de edad comparables. A cada sujeto se le tomarán dos muestras de saliva y lágrima con un intervalo mínimo entre tomas de un día y a primera hora de la mañana. En la primera sesión se tomarán además muestras de cabello.

La obtención de estas muestras no supondrá riesgo para el sujeto. Consiste en recoger la saliva durante 5 minutos en unos tubos específicos mediante la técnica pasiva denominada de babeo. En cada toma de saliva y de acuerdo con esta técnica, el paciente debe depositar en el tubo de forma intermitente toda la saliva que fuese acumulando durante un período de 5 minutos. Al menos una hora antes de la toma el sujeto no debe comer, beber (salvo agua), fumar o realizar ejercicio físico intenso, pues esto podría afectar al resultado de los análisis.

### **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:**

Se ha demostrado que el estado anímico es un factor que afecta a la evolución de patologías orgánicas, una categoría que también se aplica a la Retinosis Pigmentaria y a otras distrofias de la retina. Desde hace unos años, diversos estudios han intentado determinar la influencia del estrés en enfermos de Retinosis Pigmentaria y han tratado de establecer qué tipo de medidas contra el estrés pueden ser más apropiadas para este fin. Hay varios métodos que dependen de la propia percepción del sujeto para evaluar su grado de estrés, lo que puede introducir sesgos o inexactitudes, por lo que se han propuesto biomarcadores objetivos de estrés en saliva, cuya medida es sencilla y no invasiva. Las medidas tomadas en cabello son complementarias a las de saliva ya que permiten evaluar la acumulación de biomarcadores de estrés, como el cortisol, durante periodos extensos de tiempo, para así poder estudiar el estrés crónico, que puede ser perjudicial para la salud.

Algunos de los biomarcadores de estrés más usados son el cortisol, la Inmunoglobulina alfa secretora y el factor soluble del Receptor II del TNF-alfa. También se utiliza la melatonina para analizar el ciclo diurno, denominado ciclo circadiano, que afecta a estas sustancias en la saliva. La melatonina también permite estudiar el ciclo del sueño y vigilia del paciente y otros ciclos que controlan el funcionamiento de la retina a nivel celular.

Ninguno de estos biomarcadores está totalmente libre de limitaciones. Para poder utilizarlos e interpretar las medidas de forma fiable es preciso caracterizarlos en pacientes con distrofias de la retina. Al hacerlo, se estará más cerca de desarrollar medidas objetivas para investigar la posible influencia del estrés en las variaciones de la capacidad visual de dichos pacientes.

En resumen, con este estudio se pretenden comprobar las diferencias entre individuos y la repetitividad de las medidas en sesiones distintas de los marcadores citados anteriormente. Esto permitiría probar la validez de estos biomarcadores en la evaluación del estrés en los enfermos con distrofias hereditarias de retina.

En cumplimiento del Real Decreto 1716/2011, del 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de muestras biológicas de origen humano, le informamos de que está previsto que al finalizar el estudio se conserven las muestras biológicas en la colección de muestras del IOBA, adscrita al Instituto de Salud Carlos III (isciii.es).

Al conservarse las muestras de saliva en la colección de muestras del IOBA, dada de alta en el Instituto de Salud Carlos III, se podrá continuar la investigación y aplicar nuevas técnicas de medida, más allá del tiempo limitado que dure el presente estudio. Cada nuevo estudio que se realice con esas muestras será remitido para su evaluación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid-Este (CEIC-VA-ESTE-HCUV).

### **CONFIDENCIALIDAD:**

El tratamiento, comunicación y cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de protección de los datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece dicha legislación usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Los datos recogidos para el estudio serán identificados mediante un código y solo su médico del estudio / colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted. Por tanto, su identidad no será revelada a persona alguna.

El paciente firmará dos copias del consentimiento de las cuales, una copia será para él y otra copia será para el investigador.

**Firma del paciente:**

**Firma del investigador:**

**Nombre:**

**Nombre:**

**Fecha:**

**Fecha:**



Los potenciales biomarcadores que encontremos podrían contribuir a una mejor y más temprana identificación de los pacientes en riesgo de ser susceptibles a tener mayor stress y como consecuencia de ello peores resultados funcionales, con el objetivo de tomar medidas al respecto para mejorar los resultados. Estos biomarcadores también podrían ser una herramienta útil para una evaluación objetiva de los beneficios de los tratamientos aplicados a los pacientes con el fin de poder mejorar la calidad, efectividad y eficiencia de dichos tratamientos. Igualmente estos biomarcadores podrían servir como futuras dianas terapéuticas no solo para el tratamiento de la Retinitis Pigmentosa, sino también para otras distrofias retinianas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Disponer de datos reales sobre la progresión de la enfermedad en pacientes con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa, que sirvan de base para la identificación temprana de pacientes de alto riesgo con el fin de desarrollar actuaciones posteriores en un Pla de Calidad con aplicación de propuestas de mejora.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar parámetros clínicos y biomarcadores relacionados con el stress y la progresión de la enfermedad en con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa.

Comparar los datos clínicos obtenidos con la presencia de Cortisol, sRIITNFalpha, IgAS melatonina y Capacidad Antioxidante Total en muestras de saliva, Citoquinas, Sustancia P y GNF beta en lágrima y cortisol en pelo.

Comparar los datos anatomo-patológicos obtenidos con el OCT y los datos de densidad vascular foveal obtenidos con el OCT-A con la presencia de Cortisol, sRIITNFalpha, IgAS, melatonina y Capacidad Antioxidante Total en muestras de saliva, Citoquinas, Sustancia P y GNF beta en lágrima y cortisol en pelo.

Comparar los datos obtenidos en los pacientes con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa, con los datos obtenidos en población sana (grupo control).

*Los resultados de estos estudios ayudarán probablemente a diagnosticar y/o tratar de manera más precisa a los enfermos con una enfermedad como la suya.*

## **II) Algunas consideraciones sobre su participación:**

Es importante que Vd., como potencial donante de muestras, conozca varios aspectos importantes:

- A) La donación de muestras es totalmente voluntaria.
- B) Puede plantear todas las dudas que considere sobre su participación en este estudio.
- C) Se solicita su autorización para la toma y uso en investigación biomédica de muestras de saliva, lágrima y pelo. Dichas muestras se obtendrán o analizarán utilizando los métodos que el investigador principal considere necesarios para avanzar en la línea de trabajo arriba expuesta.
- D) Se le tomará un volumen relativamente pequeño (0'05 ml) de saliva utilizando el método de secreción pasiva, (0'01ml) de lágrima utilizando el método de secreción pasiva, y 5 mm de pelo. La donación de saliva, lágrima o pelo no tiene efectos secundarios. Se recogerán un total de dos muestras por cada sujeto con un intervalo entre ellas de 24h.
- E) No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras donadas y éstas no tendrán ningún valor comercial. No obstante la información generada a partir de los estudios realizados sobre su muestra podría ser fuente de beneficios comerciales. En tal caso, están previstos mecanismos para que estos beneficios reviertan en la salud de la población, aunque no de forma individual en el donante.
- F) Las muestras y los productos obtenidos de estas serán almacenados y custodiados en **IOBA-Universidad de Valladolid**, lugar designado para tal fin por el Investigador Principal del Estudio. La persona responsable de la custodia es el **Dr. Salvador Pastor Idoate**. La muestra quedará allí depositada de forma indefinida (siempre que no se haya consumido en su totalidad en el curso de los trabajos asociados a la misma). Si en dicho momento se propusiera el paso de las muestras a un Biobanco oficialmente reconocido, se le volverá a solicitar su consentimiento para ello.
- G) Los datos personales asociados a las muestras serán tratados según lo dispuesto en la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre) y cualquier otra que resultara aplicable.
- H) La información obtenida se almacenará en una base de datos, en soporte informático, registrada en la Agencia Española de Protección de Datos, según la legislación vigente (Ley Orgánica 15/1999). Los datos registrados serán tratados estadísticamente de forma codificada. El donante tendrá derecho de acceso, rectificación o cancelación de los datos depositados en la base siempre que expresamente lo solicite. Para ello deberá ponerse en contacto con el Investigador Principal del Estudio, el **Dr. Salvador Pastor Idoate**.

I) Las muestras y/o la información clínica asociada a las mismas podrán ser utilizadas por el grupo del investigador principal en estudios futuros de investigación relacionados con la línea de trabajo arriba expuesta. Dichas muestras y/o la información clínica asociada a las mismas podrán ser cedidas a otros investigadores designados por el Investigador Principal para trabajos relacionados con esta línea, siempre al servicio de proyectos que tengan alta calidad científica y respeto por los principios éticos. En estos dos últimos casos, se ha de solicitar antes autorización al Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud de Valladolid Este.

J) La falta de consentimiento o la revocación de este consentimiento previamente otorgado no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria que Vd. recibe/recibirá.

K) Es posible que los estudios realizados con sus muestras aporten información relevante para su salud o la de sus familiares. En ese caso Vd. tiene derecho a conocerla y trasmitirla a sus familiares si así lo desea.

L) Sólo si Vd. lo desea, existe la posibilidad de que pueda ser contactado en el futuro para completar o actualizar la información asociada al estudio.

## **CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO**

**Estudio: BIOMARCADORES DE ESTRÉS CRONICO EN SALIVA, LÁGRIMA Y PELO, EN PACIENTES CON DISTROFIAS DE RETINA, FUNDAMENTALMENTE RETINITIS PIGMENTOSA**

Yo, \_\_\_\_\_

(Nombre y apellidos del paciente ó representante legal)

He leído la información que me ha sido entregada.

He recibido la hoja de información que me ha sido entregada.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado del estudio con \_\_\_\_\_

(Nombre y apellidos del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1.- Cuando quiera.

2.- Sin tener que dar explicaciones.

3.- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Por la presente, otorgo mi consentimiento informado y libre para:

- El fin para el que se utilizarán mis muestras y datos personales según lo recogido en la hoja de información al paciente que me ha sido entregada.

- Accedo a que los médicos del HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID contacten conmigo en el futuro en caso de que se necesiten obtener nuevos datos. SI / NO. (marcar con una X lo que proceda).

- Accedo a que los médicos del HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID contacten conmigo en caso de que los estudios realizados con mis muestras/datos aporten información relevante para mi salud o la de mis familiares. SI / NO (marcar con una X lo que proceda).

Una vez firmada, me será entregada una copia del documento de consentimiento.

---

FIRMA DEL PACIENTE / REPRESENTANTE LEGAL

NOMBRE Y APELLIDOS

FECHA

EN CALIDAD DE (Parentesco, tutor legal, etc.)

Yo he explicado por completo los detalles relevantes de este estudio al paciente nombrado anteriormente y/o la persona autorizada a dar el consentimiento en nombre del paciente.

---

FIRMA DEL INVESTIGADOR

NOMBRE Y APELLIDOS

FECHA

#### **APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO (CONTACTAR CON EL INVESTIGADOR PRINCIPAL)**

Yo \_\_\_\_\_  
revoco el consentimiento de participación en el estudio, arriba firmado con fecha \_\_\_\_\_

**Firma:**