



Universidad de Valladolid



Facultad de Enfermería de Valladolid  
Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada  
Máster en Enfermería Oftalmológica  
Curso 2018/2019

# **RELACIÓN ENTRE ESTRÉS CRÓNICO, ALFA AMILASA SALIVAL Y FUNCIÓN VISUAL EN LA RETINOSIS PIGMENTARIA**

**Alumno: Carlos López Alfonso**

**Tutora: Dra. Eva Sobas Abad**

**Cotutor: Dr. Salvador Pastor Idoate**



Universidad de Valladolid



## AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

D./Dña. EVA M. SOBAS ABAD

en calidad de Tutor/a del alumno/a

D. /Dña. CARLOS LÓPEZ ALFONSO

del Máster en: ENFERMERÍA OFTALMOLÓGICA

Curso académico: 2018-2019

CERTIFICA haber leído la memoria del Trabajo de Fin de Máster titulado

"RELACIÓN ENTRE ESTRÉS CRÓNICO, ALFA AMILASA SALIVAL Y FUNCIÓN VISUAL EN LA RETINOSIS PIGMENTARIA"

y estar de acuerdo con su exposición pública en la convocatoria de 28/06/2019

(indicar Julio o Septiembre)

En VALLADOLID a 12 de JUNIO de 2019

Vº Bº

Fdo.: EVA M. SOBAS ABAD

El/La Tutor/a

SALVADOR PASTOR JUDARTE

CO-TUTOR



# CONSIDERACIONES ETICO-LEGALES

En proyecto “Validación de biomarcadores de estrés crónico en saliva, lágrima y pelo, en pacientes con distrofias de la retina, fundamentalmente retinitis pigmentosa” PI-GR-18- 938, dentro del que se engloba este trabajo, cuenta con la aprobación del comité ético de investigación clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y la aprobación de la comisión de investigación del IOBA. ANEXO III.

# CURRICULUM VITAE

**Carlos López Alfonso**

## **Formación Académica**

Graduado en Enfermería por la Universidad de Valladolid. Promoción 2014-2018. Certificado de expedición del título con fecha del 27/06/2018. Nota media del expediente 7,489.

## **Formación continuada**

Curso de Electrocardiografía para Enfermeras/os. Módulo 1. Impartido por el Grupo CTO Enfermería. Celebrado entre los días, 2 de julio y 5 de agosto de 2018.

Curso de Fármacos Intravenosos en Urgencias. Guía Enfermera. Impartido por Logos. Celebrado del 28 de junio al 28 de agosto.

Asistencia al XXII Encuentro Internacional de Investigación en Cuidados, organizado por Investén-iscii. Desarrollado del 14 al 16 de noviembre de 2018.

Taller “Básico Investigación Cuantitativa”. Impartido el 14/11/2018 durante el XXII Encuentro Internacional de Investigación en Cuidados.

Taller “Selección de estadísticos por el contraste”. Impartido el 14/11/2018 durante el XXII Encuentro Internacional de Investigación en Cuidados.

38ª Edición del Curso de Glaucoma de la Universidad de Valladolid. Impartido en los días 22 y 23 de noviembre de 2018.

## **Investigación**

Comunicación Oral “Comparación del aprendizaje generado por la metodología *flipped classroom* versus la clase magistral” durante el XXII Encuentro Internacional de Investigación en Cuidados, organizado por Investén-iscii. Desarrollado del 14 al 16 de noviembre de 2018.

# AGRADECIMIENTOS

A mi tutora y cotutor, los doctores Eva Sobas Abad y Salvador Pastor Idoate por guiarme en todo momento y enseñarme tanto acerca del mundo de la investigación.

Al equipo junto al que he participado en esta investigación, sin el trabajo de todos no hubiera sido posible.

Al IOBA por la oportunidad de aprender que esta investigación ha supuesto.

Al equipo de estadística y laboratorio del IOBA, por su trabajo con el análisis de los datos.

A Raúl Santamaría Domínguez, Diego Arlanzón Lope y Pablo Arlanzón Lope por su ayuda en relación a la ciencia de la Óptica, la cual suponía para mí un mundo totalmente nuevo.

A mis padres por apoyarme en este proyecto y en todo.

A Álvaro Sierra Mencía por su ayuda con todo y por escuchar mis penas.

A mi entrenador Esaú Sánchez Guzón y mis compañeros de krav-magá, kick boxing y boxeo, por hacerme olvidar mis preocupaciones aunque solo sea durante asaltos de 2 minutos.

A Inquisición, Pándemo, Ainara y Dúlfacar, por hacerme escapar de todo un día cada semana.

A mis amigos de la vida, bachillerato, natación, el gimnasio, la universidad y todos los ámbitos, por seguir ahí y hacerme la vida más amena.

A Telesforo Marcos Manso y el equipo de trabajadores de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud por su amabilidad y su ayuda con todo lo relacionado con fuentes bibliográficas.

# RESUMEN

**Introducción:** La Retinosis Pigmentaria (RP) es un conjunto de degeneraciones retinianas hereditarias que afecta mayoritariamente a los bastones y que produciendo una pérdida progresiva del campo visual (CV) periférico. Debido a su enfermedad, los pacientes de RP suelen tener estrés crónico. El estrés se ha visto que puede influir en la evolución de las enfermedades además de disminuir la calidad de vida de los pacientes. Además, se ha propuesto el uso de biomarcadores en saliva para la evaluación de procesos como el estrés o el dolor de una manera objetiva, siendo uno de estos biomarcadores la alfa amilasa salival (AAs).

**Objetivo:** Evaluar la relación del estrés crónico percibido por pacientes de RP con sus valores de AAs y su función visual.

**Metodología:** Para el desarrollo de esta investigación se llevó a cabo un estudio de tipo observacional con grupo control. Se tomó un grupo de pacientes de RP a los que, a lo largo de dos visitas, se les administró una serie de cuestionarios de ansiedad, se les tomaron muestras de saliva y se les evaluó la función visual. Se clasificó a los pacientes en categorías de severidad. Se analizó la relación del estrés subjetivo con las categorías de RP y los valores de AAs. Los valores de AAs de los pacientes se compararon con un control de sujetos sanos.

**Resultados:** Según los cuestionarios, un alto porcentaje de los pacientes presentaron ansiedad en grado alto o severo: STAI-S1 57.6%; STAI-T 64.1%; STAI-S2 97.5%. La ansiedad en grado leve en el cuestionario STAI-Trait, fue un factor de riesgo para la RP severa, con una Odds Ratio=21.93; IC=(2.3417, 205.2561). El ANOVA indicó diferencias significativas entre las concentraciones de AAs en el grupo de RP leve-moderado y el control ( $p=0,0300$ ) y entre el grupo de RP severa y el control ( $p=0,0108$ ).

**Conclusiones:** El grupo de RP presentó niveles elevados de estrés y mayores concentraciones de AAs que el grupo control. No se observaron diferencias en el estrés o la AAs en función del grado de severidad de RP. Tampoco se observó relación entre los grados de ansiedad y las concentraciones de AAs.

# ÍNDICE

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| ABREVIATURAS.....                    | - 1 -  |
| I. INTRODUCCIÓN .....                | - 2 -  |
| II. JUSTIFICACIÓN .....              | - 5 -  |
| III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN ..... | - 7 -  |
| IV. PICOT .....                      | - 8 -  |
| V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....       | - 9 -  |
| V.1 HIPÓTESIS .....                  | - 9 -  |
| V.2 OBJETIVOS .....                  | - 9 -  |
| VI. MATERIAL Y MÉTODOS .....         | - 10 - |
| VII. RESULTADOS.....                 | - 19 - |
| VIII. DISCUSIÓN.....                 | - 24 - |
| IX. CONCLUSIONES .....               | - 29 - |
| BIBLIOGRAFÍA .....                   | - 30 - |
| ANEXOS .....                         | - 36 - |

# ABREVIATURAS

AAs: Alfa Amilasa Salival

ACLARP: Asociación Castellano Leonesa de Afectados por Retinosis Pigmentaria

AV: Agudeza Visual

AVCC: Agudeza visual con corrección

CV: Campo Visual

DM: Desviación media/ defecto Medio

ETDRS: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

IC: Intervalo de Confianza

IOBA: Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada

K-S: Kolmogórov-Smirnov

NHC: Número de Historia Clínica

OCT: Tomografía de Coherencia Óptica

OR: Odds ratio

RP: Retinosis pigmentosa

STAI: *State-Trait Anxiety Inventory*

STAI-S: *State-Trait Anxiety Inventory-State*

STAI-S1: *State-Trait Anxiety Inventory Visita 1*

STAI-T: *State-Trait Anxiety Inventory-Trait*

STAI-S2: *State-Trait Anxiety Inventory Visita 2*

S-W: Shapiro–Wilk

VAR: *Visual Acuity Rating*



# I. INTRODUCCIÓN

La retinosis pigmentaria (RP) es comúnmente definida como un grupo heterogéneo de degeneraciones retinianas hereditarias, que por lo general afectan en mayor medida a los bastones y conforme avanza la enfermedad también a los conos (1). Entre las patologías de retina se encuentran las denominadas distrofias retinianas, siendo la RP una de las más comunes, con una prevalencia de 1:5.000 (1,2) o de entre 1:3.500 a 1:4.000 según otras fuentes (3). En España se estima que existen más de 20.000 casos (4).

Esta enfermedad se caracteriza por cambios en el fondo de ojo y una sintomatología variable. El patrón clásico de fondo de ojo se presenta con grumos pigmentarios de color oscuro denominados espículas óseas, generalmente en el área de la retina intermedia y en zonas perivenosas (1). También es frecuente (con una incidencia del 10% al 50%) la presencia de edema macular cistoide, consistente en la presencia de líquido en la mácula debido a un fallo en la homeostasis de la barrera hemato-retiniana. Esto causa un engrosamiento de la misma, que trae como consecuencia visión borrosa o disminuida (1, 5, 6). Pueden existir también alteraciones de los vasos retinianos, dispersión de pigmento en zonas ecuatoriales y gliosis del nervio óptico (1).

Los síntomas más comunes son la nictalopía (frecuentemente el primero en aparecer), la dificultad de adaptación a la oscuridad, la pérdida de sensibilidad al contraste, la discromatopsia y la degeneración del campo visual (CV) en forma de visión en túnel. Esta pérdida progresiva del CV periférico es uno de los síntomas más característicos de la RP, y se debe a que se afecta principalmente la zona periférica de la retina, estos pacientes pueden no tener una agudeza visual (AV) muy disminuida pero aun así tener una notable limitación de la función visual. Puede afectarse la visión central, en mayor o menor medida en cada caso, pero es frecuente que suceda ya en estadios avanzados de la enfermedad (1-3, 7).

Esta patología se produce por la presencia de alguna mutación en uno o varios de los genes responsables de la estructura y función de los fotorreceptores de la

retina. Estas mutaciones causan una variación en la formación de las proteínas de los fotorreceptores haciendo que estas estén ausentes, no realicen correctamente su función o causen un daño al fotorreceptor (1, 3, 8).

Actualmente la RP es una enfermedad para la que no existe tratamiento, salvo el sintomático como puede ser el uso de medidas que ayuden a suplir la pérdida de visión. Algunas investigaciones (la mayoría en modelos animales) trabajan en tratamientos de terapia génica alterando las mutaciones existentes a fin de eliminar la enfermedad. Recientemente se ha comercializado un tratamiento sustitutivo para la amaurosis congénita de Leber debida a una mutación en el gen RPE65 (9).

Debido a su cronicidad y a los efectos que tiene sobre sus vidas la RP, los pacientes de esta patología frecuentemente presentan un estrés crónico que les afecta en su día a día (10). El estrés crónico es el proceso en el cual se presenta una situación de estrés psicológico mantenida en el tiempo, siendo siempre un proceso negativo para el individuo (11). Pequeñas dosis de estrés pueden llegar a ser estimulantes, sin embargo demasiado estrés causa fatiga psicológica (11). Además de estar relacionado con múltiples problemas psicosociales (como la depresión), el estrés crónico también afecta a la salud orgánica del individuo (12, 13).

Un método empleado para valorar el estrés de pacientes y sujetos en estudios es el cuestionario *State-Trait Anxiety Inventory* (STAI). Este cuestionario evalúa dos dimensiones de la ansiedad, la ansiedad entendida como una situación momentánea dentro del devenir emocional de los sujetos a lo largo del tiempo, denominada ansiedad-estado (*state-anxiety*), y la ansiedad como tendencia del individuo en cuanto a la manera de afrontar y responder a situaciones estresantes, llamada ansiedad-rasgo (*trait-anxiety*). Por ello el STAI se divide en dos subescalas, la STAI-State (STAI-S) y la STAI-Trait (STAI-T) (14-16).

Sería de gran utilidad disponer de un método de evaluación del estrés más objetivo. Se han encontrado estudios que analizan el uso de sustancias en saliva como posibles biomarcadores de estrés (17, 18). Uno de ellos es la alfa amilasa salival (AAs) (19).

La AAs es una enzima segregada por las células acinares que forman las glándulas salivares, esta secreción se da principalmente en respuesta a estímulos gustativos o movimientos de masticación. La secreción puede desencadenarse por diversas vías del sistema nervioso autónomo (20). Ciertos estudios han observado la relación entre el estrés y la secreción de AAs y una de las vías propuestas por las que sucedería esto, es la mediada por el sistema adrenérgico (19, 21).

El estrés influye en gran medida en la vida de los pacientes de RP, llegando poder afectar a la sintomatología de los pacientes (22). Además varios autores sugieren que la AAs puede ser útil como un biomarcador de estrés (19, 21, 23). Por ello en esta investigación se evaluaron los valores AAs, para valorar su función como indicador objetivo del estrés crónico en pacientes de RP. Esta investigación forma parte de un proyecto más amplio, en el cual se trabaja con otros posibles biomarcadores y su relación con el estrés.

## II. JUSTIFICACIÓN

Es importante analizar la relación entre la RP y el estrés crónico, debido a que existen investigaciones que refuerzan la idea de que el estrés podría tener considerables repercusiones sobre la progresión de la enfermedad (24).

Se ha demostrado que los pacientes de RP sufren dificultades, relacionadas con actividades de la vida diaria y con desenvolverse en situaciones de poca luminosidad o con exceso de brillo, y esto les provoca estrés (25, 26). Los pacientes de RP con frecuencia ven afectadas su salud mental y emocional. Algunos de los temas que más malestar emocional causan a los pacientes de RP son las preocupaciones acerca de la evolución de la enfermedad, el comunicar su déficit de visión a otras personas, la frustración y el estrés (25, 27). Azoulay et al, observaron que tanto menores niveles de calidad de vida, como un peor estado emocional se relacionaban con niveles de AV inferiores a 0.3 y con diámetros de CV inferiores a 20° (28). Se ha observado un mayor número de síntomas depresivos en pacientes de RP que en sujetos sanos, además de un mayor grado de depresión a peor AV y también conforme mayor es la edad del sujeto (29). En un estudio a nivel nacional en Corea se llegó a la conclusión de que los sujetos que padecen RP tienen una mayor tasa de mortalidad que la población general, atribuible a una mayor tasa de suicidios, aunque esta diferencia solo era significativa en varones de 40 a 59 años (29, 30). Otro estudio observó en pacientes de RP una relación entre una mayor variabilidad del CV y la presencia estados psicológicos negativos (24). El mismo grupo, encontró relación entre un mayor número de fotopsias y periodos de tiempo en los que los pacientes se sentían más estresados o con el ánimo bajo (22).

En la evaluación del estrés el principal problema es que habitualmente se emplean métodos de evaluación subjetivos, que dependen considerablemente de la percepción del propio paciente. Por eso sería útil encontrar marcadores objetivos del estrés, como serían los biomarcadores en saliva. Además ya ha sido observado el potencial de los biomarcadores de saliva como indicadores de otros procesos psicológicos generalmente valorados de manera subjetiva, como es el dolor, en estudios del grupo de trabajo con el que se desarrolló esta investigación (31).

En concreto la AAs es una enzima salivar cuya secreción está relacionada con la activación del SNS y algunos estudios la muestran como un marcador potencialmente útil y fiable de estrés, lo que justifica trabajar con ella (19).

La utilidad de la AAs como biomarcador indicativo de estrés ha sido tratada por algunas investigaciones, pero la evidencia actual aún necesita fortalecerse. Además los resultados obtenidos hasta la fecha, son algo heterogéneos (19).

Dada la falta de métodos de valoración objetivos del estrés, este estudio buscó evaluar el uso de la AAs como un posible biomarcador de dicho estrés y analizar su relación con la progresión de la enfermedad, lo que podría contribuir a una valoración más objetiva del estrés y a mejores métodos de control del mismo y de la RP. Además no existen estudios previos que analicen los valores de AAs en esta patología como indicativos de estrés. Esto dificultó plantear el enfoque de la investigación pero hace que el estudio sea de mayor interés dado que es un intento novedoso de explorar este tema.

A día de hoy lo que se conoce sobre la relación del estrés crónico con la RP es escaso. Esto le convierte en un tema interesante de investigar, por los posibles beneficios que podría tener para los pacientes. Con los resultados observados en esta investigación se podría evaluar el uso de la AAs como un biomarcador útil para la valoración del estrés crónico en la RP. A fin de desarrollar investigaciones futuras que estudien como mejorar el manejo de esta patología, la calidad de vida de los pacientes y conservar su función visual en espera del desarrollo de terapias curativas. Por ello el propósito de este estudio es evaluar el estrés en pacientes con RP y observar como este estrés influye o se relaciona con su patología, función visual y con las concentraciones de AAs.

### III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la relación de los valores de AAs y el estrés crónico con la función visual de los pacientes con retinosis pigmentaria?

## IV. PICOT

PACIENTE: Sujetos diagnosticados de RP mayores de 18 años pertenecientes a la Asociación Castellano Leonesa de Afectados por Retinosis Pigmentaria (ACLARP).

INTERVENCIÓN: El estudio constó de 2 visitas por paciente. Se tomaron muestras de saliva. La función visual se evaluó mediante la toma de la AV, la realización de una campimetría y una Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). Se empleó el cuestionario STAI con sus secciones Ansiedad-Estado y Ansiedad-Rasgo, para evaluar el estrés. Se realizó una exploración oftalmológica.

COMPARACIÓN: Como grupo control para las medidas de la AAs, se empleó un conjunto de individuos sanos pertenecientes a un estudio previo (31).

### VARIABLES:

#### Primarias:

- Estrés crónico: Medido en base a la puntuación de la escala STAI. Variable cualitativa ordinal.
- Grado de RP. Variable cualitativa ordinal.

#### Secundarias:

- Concentración de AAs en U/ml. Variable cuantitativa continua.
- Función visual: Expresada mediante la AV, la desviación media de las campimetrías (DMCV) 24-2 y el volumen macular del HD-OCT. Variables cuantitativas.
- Variables sociodemográficas:
  - Edad. Variable cuantitativa continua.
  - Sexo. Variable cualitativa nominal.

TIEMPO: Desde el 17/04/2018 hasta el 15/02/2019.

# V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## V.1 HIPÓTESIS

Los pacientes con mayor grado de RP y peor función visual presentan mayor grado de estrés crónico y concentraciones más altas de AAs.

## V.2 OBJETIVOS

Objetivo principal:

Evaluar la relación del estrés crónico percibido por pacientes de RP con sus valores de AAs y su función visual.

Objetivos específicos:

- ❖ Analizar la relación entre el grado de estrés crónico medido mediante el State-Trait Anxiety Inventory (STAI) y la severidad de la enfermedad.
- ❖ Analizar la relación de los niveles de AAs y la severidad de la enfermedad.
- ❖ Comparar los niveles de AAs de los pacientes de RP con los de sujetos sanos.
- ❖ Valorar el grado de estrés que presentan los pacientes de RP de acuerdo al STAI.



# VI. MATERIAL Y MÉTODOS

## VI.1 MARCO DE ACTUACIÓN

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), se emplearon tanto las infraestructuras como los medios técnicos y el aparataje. Los sujetos que compusieron la muestra fueron pacientes de retinosis pigmentaria pertenecientes la Asociación Castellano Leonesa de Afectados por Retinosis Pigmentaria (ACLARP) (32), captados por el IOBA con la ayuda de dicha asociación.

## VI.2 DISEÑO

La presente investigación se desarrolló en el seno de un estudio de varias fases desarrollado por el IOBA, que lleva por título “Validación de biomarcadores de estrés crónico en saliva, lágrima y pelo, en pacientes con distrofias de la retina, fundamentalmente retinitis pigmentosa” PI-GR-18- 938. La investigación llevada a cabo fue de tipo observacional con grupo control (33, 34).

## VI.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Como criterios de inclusión se estableció que los sujetos a estudio debían ser individuos de 18 años o más que padeciesen RP. Asimismo los sujetos debían pertenecer a ACLARP.

Por otra parte se excluyó de ser partícipes del estudio a aquellos individuos que cumplieran una o más de las siguientes características: Historial de trastornos psiquiátricos, presencia de una enfermedad autoinmune, mujeres embarazadas o en período de lactancia, mujeres en tratamiento hormonal (incluyendo anticonceptivos), haber sido sometidos a cirugía ocular en los 6 meses previos a su inclusión en el estudio, consumo habitual de fármacos psicotrópicos (antipsicóticos,

benzodiazepinas, fármacos anticonvulsivos o antidepresivos), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) o analgésicos.

#### **VI.4 ESTRATEGIA DE RECLUTAMIENTO**

Para la captación de los pacientes se contó con la ayuda de ACLARP. El director de ACLARP se encargó de cada semana proponer a miembros de la asociación la participación en el estudio y cada semana facilitar al IOBA los datos de 4 de ellos para que fueran citados.

#### **VI.5 ESTRATEGIA DE ADHERENCIA**

Para favorecer que los pacientes participasen en ambas visitas, en la segunda de ellas se les realizó una exploración oftalmológica, en la que el oftalmólogo les informó acerca de su estado y resolvió las dudas que pudieran tener. Además cuando se concluya todo el proyecto “Validación de biomarcadores de estrés crónico en saliva, lágrima y pelo, en pacientes con distrofias de la retina, fundamentalmente retinitis pigmentosa” se entregará un informe con los resultados finales a ACLARP. Con ello la adherencia de los pacientes se vio favorecida por la posibilidad de más información, una revisión sin coste y nuevas opiniones acerca de su estado.

#### **VI.6 DESARROLLO DE LAS VISITAS**

Cada paciente acudió a dos visitas, separadas en 3 días entre sí ya que en el grupo usado como control las mediciones se hicieron con un intervalo máximo de una semana (31). Aunque lo conveniente es realizar el consentimiento informado y valorar que se cumplan los criterios de inclusión y exclusión en una visita previa separada (visita 0), por motivos de logística esto se realizó en la primera visita (visita 1) junto con el primer bloque de pruebas. Las pruebas realizadas en cada visita se

recogen en la tabla 1. De no poder realizarse alguna prueba en la visita 1, se realizaron en la visita 2.

De los diversos apartados del proyecto, la presente investigación se centró en analizar los valores de AAs de las muestras de saliva, el cuestionario STAI y la función visual.

Tabla 1. *Timeline* de las visitas del estudio.

|                 |                          |                          |                    |                                |             |                        |     |                           |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------------|-------------|------------------------|-----|---------------------------|
| <b>VISITA 0</b> | Consentimiento informado | Screening de condiciones |                    |                                |             |                        |     |                           |
| <b>VISITA 1</b> |                          |                          | Recogida de saliva | Realización de cuestionarios   | Campimetría | Toma de agudeza visual | OCT |                           |
| <b>VISITA 2</b> |                          |                          | Recogida de saliva | Realización de un cuestionario |             |                        |     | Exploración oftalmológica |

## VI.7 INTERVENCIONES

Recogida de saliva: La saliva se recogió por la denominada técnica de babeo (35). Esto consiste en que los pacientes escupan saliva dentro de un tubo de recolección de muestras, a través de un tubo colector. Previamente a iniciar la recogida de la muestra los sujetos se enjuagaron 5 veces con agua y se les indicó que justo antes de empezar tragasen una vez toda la saliva que tuviesen. La secreción no fue estimulada de ninguna forma. La cantidad mínima para poder realizar el análisis era de 1ml. Los pacientes debían de llevar como mínimo una hora sin comer, mascar chicle, tomar caramelos, lavarse los dientes, ni fumar y pudiendo beber únicamente agua. Todas estas instrucciones les fueron explicadas previamente a los sujetos de acuerdo a lo desarrollado en el Anexo I. Se anotó la hora de la última comida.

Cuestionarios: El cuestionario STAI fue autoadministrado cuando los sujetos tenían capacidad de lectura. En caso de que no pudieran leer, los investigadores

colaboradores se lo leyeron y anotaron las respuestas, limitándose su función a ofrecer las respuestas del cuestionario, no a interpretar las respuestas de los pacientes. Este cuestionario está compuesto de una serie de cuestiones tipo Likert, todos los ítems cuentan con 4 posibles respuestas que expresan un menor o mayor grado de acuerdo con el ítem en cuestión. Mayor grado de acuerdo en algunos ítems conlleva una mayor ansiedad, mientras que otros indican menor ansiedad a mayor grado de acuerdo. La puntuación resultante indica mayor ansiedad a mayor puntuación del STAI. En la primera visita se administró el cuestionario STAI en sus apartados Trait y State. En la segunda visita se administró únicamente el cuestionario STAI en su apartado State.

Campimetría: Se realizó una campimetría para ambos ojos a cada sujeto, empleando la estrategia SITA (Swedish Interactive Threshold Algorithm) estándar 24-2. El campímetro empleado fue un Campímetro Humphrey Visual Field Analyser (HFA, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA).

AV: Se tomó la agudeza visual de ambos ojos a cada sujeto con la mejor corrección. Para ello se emplearon optotipos Logarithmic Visual Acuity Chart “ETDRS” Chart 2 de la casa comercial Precision Vision. La distancia entre los sujetos y los optotipos fue de 4m o 1m en caso de que no pudieran diferenciar las letras de la primera línea a 4m. En caso de no diferenciar las letras de ninguna línea a 1m, se registró si eran capaces de ver el número de dedos que el examinador les mostraba (CD), en su defecto si percibían movimiento de manos (MM) o en su defecto si percibían luz (PL) o no percibían luz (NPL).

OCT: Mediante un Cirrus HD-OCT 5000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, EE.UU.), se realizaron en cada ojo los siguientes protocolos: Macular Cube 200x200, Optic Disc Cube 200x200, Angyography 3x3 y Angyography 6x6.

Exploración oftalmológica: Como fin a la segunda visita se realizó a los pacientes una exploración oftalmológica completa.

## VI.8 CLASIFICACIÓN DEL GRADO DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

Se establecieron unas categorías de severidad de la RP, en base a lo propuesto por Smith et al (36) . Para realizar dicha clasificación se tuvieron en cuenta:

- Desviación media (DM) de las campimetrías: Expresada en decibelios (dB) y obtenida mediante la realización de las campimetrías.
- AV de lejos con la mejor corrección: Determinada en base al test ETDRS y cuantificada en escala Visual Acuity Rating (VAR).
- Volumen macular medio: Expresado en  $\text{mm}^3$  y extraído de la realización del OCT.

Para calcular la categoría de severidad dichas variables clínicas se valoraron de 0 a 4:

- AV  $\geq 75=0$ ; 66-74=1; 56-65=2; 46-55=3 y  $\leq 45=4$ .
- DM  $\leq 15$  DM =0; -15.1 a -20=1; -20.1 a -25=2; -25.1 a -30=3 y  $\geq 30=4$ .
- Volumen macular medio:  $\geq 9.7=0$ ; 9.0 a 9.6=1; 8.3 a 8.9=2; 7.6 a 8.2=3 y  $\leq 7.5=4$ .

A eso se le sumaron las puntuaciones de 4 criterios de la exploración oftalmológica que se valoraron de 0 a 2:

- Grado de catarata siguiendo la escala LOCS-III (37).
- Apariencia del nervio óptico.
- Atrofia de la retina.
- Patología macular.

La clasificación global consiste en la suma de los valores de la exploración clínica (AV, CV y OCT) más los obtenidos en la exploración oftalmológica quedando de la siguiente manera:

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

## VI.9 MANEJO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Las muestras biológicas fueron identificadas nada más recogerse mediante pegatinas con un código. Dicho código consistió en el número de historia clínica (NHC) seguido de “S1” para la primera muestra de saliva, y el NHC seguido de “S2” para la muestra de la segunda visita. Tras su recogida las muestras de saliva fueron almacenadas a -20°C.

El análisis de los valores de AAs se realizó mediante ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), en este test la sustancia a detectar (antígeno), en este caso la AAs, es detectada por un anticuerpo ligado a una enzima cuya actividad, una vez agregado un sustrato enzimático, genera un producto que es detectable.

Dicho análisis comenzó a partir del 25/02/2019 y fue realizado en el laboratorio del IOBA.

## VI.10 VARIABLES A ANALIZAR

- Valores medios de la AAs (U/ml). Es una variable cuantitativa continua.
- Puntuación del STAI-State de las visitas 1 y 2 (STAI-S1 y STAI-S2). Los resultados del STAI-S se expresan como una variable cualitativa ordinal constituida por 4 grados de ansiedad: 0-19: normal; 20-28: leve; 29-39: alta; >40: severa.
- Puntuación del STAI-Trait (STAI-T). Los resultados del STAI-T se expresan como una variable cualitativa ordinal constituida por 4 grados de ansiedad: 0-19: normal; 20-28: leve; 29-39: alta; >40: severa.
- Severidad de la patología, agrupada en 3 categorías. Es una variable cualitativa ordinal. La puntuación de la que derivan esas categorías es una variable cuantitativa discreta.
- Edad. Es una variable cuantitativa continua.
- Sexo. Se trata de una variable cualitativa nominal.
- Variables cónicas: AV con corrección (AVCC), volumen macular del OCT y desviación media de las campimetrías (DMCV). Son variables cuantitativas.

## V.11 MANEJO DE DATOS

Los datos obtenidos durante las visitas de los pacientes se recogieron en un cuaderno de recogida de datos (CRD) diseñado para ello, ANEXO II. Cada paciente fue identificado por el valor numérico del n al que correspondía, además de por su número de historia clínica en el CDR. Los valores de los biomarcadores fueron suministrados por los técnicos de laboratorio una vez concluido el análisis. Las variables fueron pasadas a una base de datos por los investigadores colaboradores. El manejo de los datos se llevó a cabo conforme a la Ley Orgánica 3/2018, del 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales (LOPD) y garantía de los derechos digitales.

## V.12 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población diana de la investigación son las personas que padecen RP. La muestra empleada para el estudio fueron pacientes pertenecientes la Asociación Castellano Leonesa de Afectados por Retinosis Pigmentaria (ACLARP) (32), captados por el IOBA con la ayuda de dicha asociación.

Población de referencia: Pacientes con RP de edades de entre  $\geq 18$  y 60 años.

Método de estimación de los Límites de Referencia: Asumiendo que la distribución de cada uno de estos marcadores es normal, el intervalo de referencia se estimará utilizando el intervalo inter-fractílico, cuya expresión es:  $\bar{X} \pm k S_X$ . Donde  $\bar{X}$  representa la media muestral,  $S_X$  la desviación estándar y k es 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 (IC) (90%). Fijando un nivel del 90%, se calcula este IC 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 al menos que  $\alpha$  sea como mínimo del orden de  $1/n$ . De este modo, la determinación paramétrica de los fractiles 0.025 y 0.975 requiere de al menos 40 individuos.

La muestra final se compuso de  $n_{\text{mujeres}}=30$  y  $n_{\text{varones}}=48$ . Con una media de edad de  $51.59 \pm 13.4$  años.

Se empleó un grupo control (GC) para las medidas de biomarcadores, procedente de un estudio previo (31) y compuesto por 34 individuos sanos.

## V.13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico fue realizado empleando el software R versión 3.5.3 (11/03/2019) (38).

Se fijó la significación estadística en un p-valor  $< 0.05$ .

Las variables cuantitativas se expresaron en base a la media, la desviación típica y el intervalo de confianza del 95% para la media.

El análisis descriptivo de las variables cualitativas se realizó en términos de porcentajes junto con un intervalo de confianza al 95% para cada categoría.

Previamente al análisis inferencial de las variables cuantitativas se empleó la prueba de Shapiro-Wilk (S-W) para determinar si la distribución de las muestras se correspondía con una distribución normal, no se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) debido a que el tamaño muestral era pequeño. No se asumió normalidad en ninguno de los casos, por lo cual se empleó la U de Mann-Whitney. Además se comprobó la homogeneidad de varianzas mediante el contraste de Brown-Forsythe (una modificación del test de Levene).

Para el análisis de la variable cualitativa sexo (mujeres=M; varones=V) se empleó el contraste de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ).

Cuando se realizaron análisis de regresión logística, los coeficientes del modelo de regresión se interpretan en términos de Odds Ratio (OR), la OR sirve para cuantificar el riesgo de tener RP en categoría severa.

Se realizó un análisis de la relación de las variables demográficas con la severidad de la enfermedad.



Se analizó la correlación entre las variables clínicas indicativas de gravedad (AVCC, volumen macular del OCT y DMCV), mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Se analizó por separado la relación de cada una de las escalas de ansiedad (STAI-S1, STAI-T, STAI-S2), con las categorías de RP mediante el Test exacto de Fisher y aplicando un modelo de regresión logística a cada uno de los casos. Después se realizó un modelo de regresión logística con la severidad de la enfermedad, los grados de ansiedad de escalas y los valores de AAs.

Posteriormente se pasó a realizar el análisis en comparación con el GC. Para comparar las diferencias en los valores de AAs en el GC frente a los pacientes de RP, divididos en sus dos categorías de severidad, se empleó un ANOVA de un factor. Previamente a realizar el ANOVA se analizó la homogeneidad de varianzas de las muestras con el Test de Levene. Se comprobó la normalidad mediante la prueba de K-S y además mediante el análisis de los residuos, la curtosis y el coeficiente de asimetría. Después se realizaron un ANOVA de Brown-Forsythe y un ANOVA de Welch's. Por último se realizó una prueba de comparaciones múltiples de T2 de Tamhane.

## **V.14 CONSIDERACIONES ÉTICO-LEGALES**

El proyecto en el que se engloba esta investigación cuenta con la aprobación del comité ético de investigación clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y ha sido aprobado por la comisión de investigación del IOBA ANEXO III PI-GR-18- 938. Todos los pacientes participaron tras firmar un consentimiento informado ANEXO IV. La investigación se llevó a cabo en base a las normas de la declaración de Helsinki. El autor del presente trabajo firmó una cláusula de confidencialidad de datos previamente a su incorporación al proyecto ANEXO V.

## VII. RESULTADOS

### Variables sociodemográficas

La muestra se compuso de 78 pacientes (mujeres=30 (38.5%); varones=48 (61.5%)). La edad fue de  $47.12 \pm 12.94$  años para RP leve-moderada y de  $53.83 \pm 13.17$  años para la RP severa. El grupo control se compuso de 34 sujetos sanos (mujeres=23; varones=11), la media de edad fueron 34 años (con un rango de edad de 30 a 40 años).

### Grado de severidad

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%). De las 3 posibles categorías de severidad de la RP, en la de RP leve solo hubo 2 sujetos. Por motivos estadísticos se incluyeron en la categoría de RP moderada dando lugar a la categoría de RP leve-moderada. La otra categoría fue la RP severa. La distribución de los pacientes entre las dos categorías se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución de la muestra, en cuanto a las categorías de RP.

|              |               | N  | %    | IC 95% para el % |       |
|--------------|---------------|----|------|------------------|-------|
|              |               |    |      | Inf.             | Sup.  |
| Severidad RP | Leve-Moderada | 26 | 33.3 | 23.31            | 45.02 |
|              | Severa        | 52 | 66.7 | 54.98            | 76.69 |
|              | Total         | 78 | 100  | .                | .     |

RP=Retinosis pigmentaria. N=número de sujetos.  
IC=Intervalo de confianza. Inf.=Inferior. Sup.=Superior.

## Relación entre sexo y grado de severidad

La proporción de varones y mujeres en cada categoría se presenta en la tabla 3. No hubo diferencias en la prevalencia de una categoría de RP u otra en cuanto al sexo ( $p=0.459$ ).

Tabla 3. Proporción de sexos en cada categoría de RP.

|       | RP Leve-Moderada |      |                  |       | RP Severa |      |                  |       | H <sub>0</sub> : independencia |         |
|-------|------------------|------|------------------|-------|-----------|------|------------------|-------|--------------------------------|---------|
|       | n                | %    | IC 95% para el % |       | n         | %    | IC 95% para el % |       | Chi                            | p-valor |
|       |                  |      | Inf.             | Sup.  |           |      | Inf.             | Sup.  |                                |         |
| M     | 12               | 46.2 | 27.14            | 66.25 | 18        | 34.6 | 22.33            | 49.16 | 0.5484                         | 0.459   |
| V     | 14               | 53.8 | 33.75            | 72.86 | 34        | 65.4 | 50.84            | 77.67 |                                |         |
| Total | 26               | 100  | .                | .     | 52        | 100  | .                | .     |                                |         |

M=Mujeres. V=Varones. RP=Retinosis pigmentaria. N=número de sujetos.  
IC=Intervalo de confianza. Inf.=Inferior. Sup.=Superior.

## Relación entre edad y grado de severidad

En la tabla 4 se presenta la edad de la muestra. Se observó que la edad constituía un factor de riesgo para la RP severa, OR=1.04, ( $p=0.0376$ ).

Tabla 4. Distribución de la muestra en cuanto a edad.

| N  | Media | DT   | IC 95% media |       | Med. | Min | Max | H <sub>0</sub> : Normalidad |         |
|----|-------|------|--------------|-------|------|-----|-----|-----------------------------|---------|
|    |       |      | Inf.         | Sup.  |      |     |     | S-W                         | p-valor |
| 78 | 51.59 | 13.4 | 48.57        | 54.61 | 52.5 | 17  | 79  | 0.063                       | 0.6106  |

N=número de sujetos. DT=Desviación típica. IC=Intervalo de confianza. Inf.=Inferior. Sup.=Superior.  
Med=Mediana. Min=Mínimo. Max=Máximo. H<sub>0</sub>=Hipótesis nula. S-W=Shapiro-Wilk

## Análisis de la las variables clínicas

Los valores de las variables clínicas fueron:

- AV  $53.08 \pm 23.09$ .
- Volumen macular  $8.272 \pm 1.390 \text{ mm}^3$ .
- DMCV  $-26.51 \pm 8.782 \text{ dB}$ .

Se encontró una correlación entre el grado de severidad de la enfermedad y las variables: AVCC, volumen macular del OCT y DMCV.

- AVCC: ( $p < 0.0001$ ).
- Volumen macular: ( $p = 0.048$ ).
- DMCV: ( $p = 0.001$ ).

Existieron diferencias significativas en la AVCC y la DMCV, en función de la categoría de severidad, ( $p < 0.001$ ) y ( $p = 0.001$ ) respectivamente. Siendo los afectados de RP severa los que obtuvieron una media más baja respecto a la RP leve-moderada. En cuanto al OCT, la diferencia no se consideró significativa, ( $p = 0.038$ ). Las diferencias de estas medias se muestran en la figura 1.

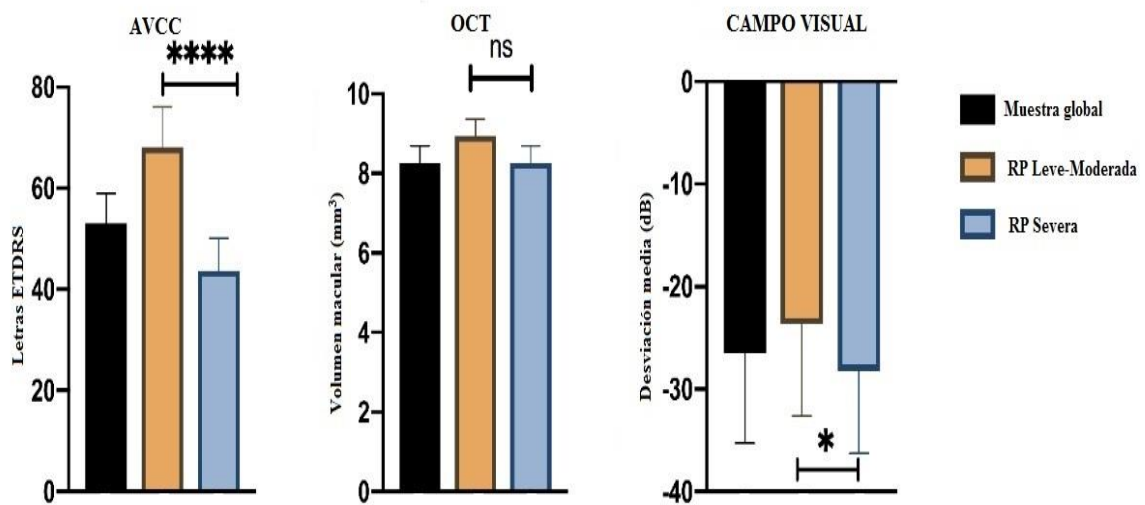


Figura 1: Diferencias entre las medias de AV, CV y OCT según grado de severidad de RP. Las barras representan las medias-intervalos de confianza al 95%. \*\*\*\*:  $< 0.0001$ . \*:  $< 0.05$ . ns: no significativo.

### Sujetos eliminados para análisis relacionados con sAA

Dado que algunos sujetos no tenían datos de la concentración de AAs, esos sujetos fueron eliminados de los análisis que tenían en cuenta la AAs. En total se eliminaron 4 sujetos. En esta muestra de 74 sujetos, el mayor porcentaje de los pacientes presentaron una RP severa (64.9%) y en su mayoría fueron varones (60.8%). La edad fue de  $51.62 \pm 12.86$  años.

## Análisis de la ansiedad

La ansiedad de los pacientes expresada por cada cuestionario (STAI-S1, STAI-S2, STAI-T) se expresó en porcentajes y se analizó empleando la muestra de 74 pacientes. Para cada cuestionario se analizó si existían diferencias en la proporción de cada grado de ansiedad en función de las categorías de severidad y de los valores de AAs. No se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre los grados de ansiedad y las categorías de RP, ni entre los grados de ansiedad y los valores de AAs ( $p > 0.05$ ). Salvo en el caso del STAI-T, en el que la OR para el grado leve fue de 21.93; IC (2.342, 205.256); ( $p = 0.0068$ ) para la RP severa. Por lo que se observó una asociación entre una ansiedad leve en el STAI-T y presentar RP severa.

Aunque no encontrasen diferencias significativas, los porcentajes de pacientes con algún grado de ansiedad, en el conjunto de la muestra de 78 pacientes, fueron muy altos, tal y como se observa en la tabla 5. Para el STAI-S1 un 71.7% de pacientes presentaban ansiedad de algún grado y de ellos un 57.6% la presentaban en grado alto o severo. Para el STAI-T, un 89.7% de los pacientes presentaban ansiedad, de los cuales un 64.1% lo hacían en un grado alto o severo. En la segunda visita, para el STAI-S2, el 97.5% de los pacientes presentaron ansiedad en grado alto o severo.

Tabla 5. Distribución porcentual de los grados de ansiedad en la muestra de 78 pacientes.

|                              |        | N  | %    | IC 95% para el % |       |
|------------------------------|--------|----|------|------------------|-------|
|                              |        |    |      | Inf.             | Sup.  |
| Ansiedad estado V1 (STAI-S1) | Normal | 22 | 28.2 | 18.88            | 39.7  |
|                              | Leve   | 11 | 14.1 | 7.59             | 24.26 |
|                              | Alta   | 14 | 17.9 | 10.5             | 28.62 |
|                              | Severa | 31 | 39.7 | 29.03            | 51.48 |
| Ansiedad rasgo V1 (STAI-T)   | Normal | 8  | 10.3 | 4.85             | 19.73 |
|                              | Leve   | 20 | 25.6 | 16.72            | 37    |
|                              | Alta   | 29 | 37.2 | 26.72            | 48.91 |
|                              | Severa | 21 | 26.9 | 17.79            | 38.36 |
| Ansiedad estado V2 (STAI-S2) | Normal | 2  | 2.6  | 0.45             | 9.8   |
|                              | Alta   | 18 | 23.1 | 14.6             | 34.25 |
|                              | Severa | 58 | 74.4 | 63               | 83.28 |

V1=Visita 1. V2=Visita 2. N=número de sujetos. IC=Intervalo de confianza. Inf.=Inferior. Sup.=Superior.

## Análisis de la AAs, RP vs control

Las concentraciones de AAs fueron: Para el grupo de RP leve-moderada 103.22±103.06 U/ml y para el grupo de RP severa 96.86±109.83 U/ml; (p=0.6568) IC (-45.834, 58.558). Siendo una diferencia estadísticamente no significativa.

En el grupo control la concentración era de 50.07±16.53 U/ml (31).

El ANOVA mostró que existían diferencias estadísticamente significativas entre algunos de los grupos analizados, (p=0.0018). Los resultados de las comparaciones múltiples se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Análisis de comparaciones múltiples.

|                                    | Media 1 | Media 2 | Diferencia de medias | IC 95% Dif.     | p-valor |
|------------------------------------|---------|---------|----------------------|-----------------|---------|
| <b>Control VS RP-Leve-Moderada</b> | 50.07   | 103.2   | -53.13               | -101.6 , -4.677 | 0.0300  |
| <b>Control VS RP-Severa</b>        | 50.07   | 96.86   | -46.79               | -83.91 , -9.670 | 0.0108  |

RP=Retinosis pigmentaria. Media 1=Media del primer grupo de la comparación. Media 2=Media del segundo grupo de la comparación. IC=Intervalo de confianza. Dif.=Diferencia de medias.

Las concentraciones de AAs, tanto en el grupo de RP leve-moderada como en el grupo de RP severa, fueron significativamente mayores que en el grupo control. Los valores de AAs para cada grupo están representados en la figura 2.

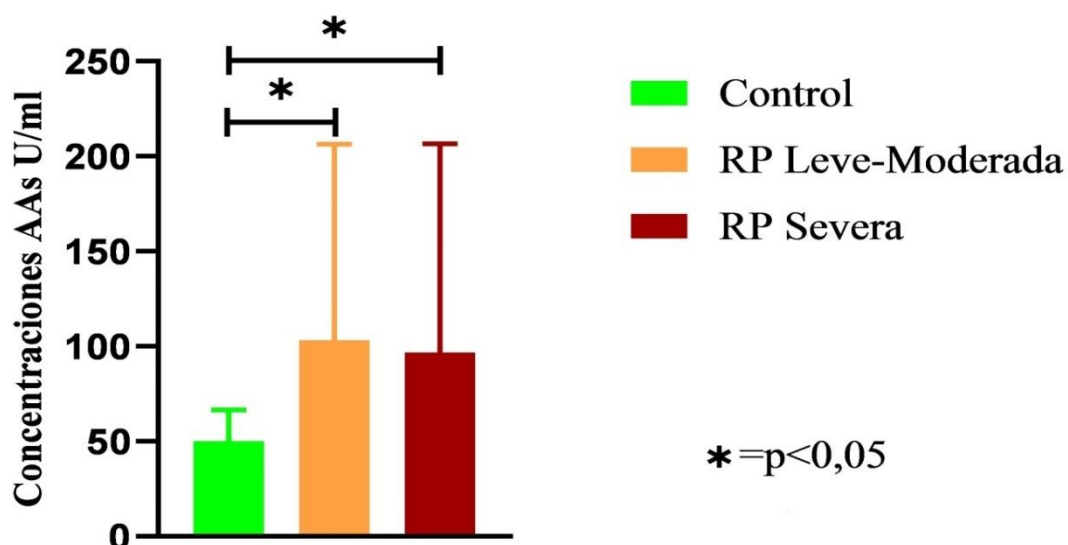


Figura 2. Concentraciones de AAs en el grupo control y los grupos de RP.

## VIII. DISCUSIÓN

### VIII.1 Discusión

La investigación acerca del uso de la AAs como indicador de estrés es un tema novedoso. En el caso de la RP, no hay estudios previos que analicen esta relación entre estrés, AAs y función visual. Dada esta escasez de evidencia previa no es posible comparar algunos de los resultados con los obtenidos por otros estudios.

La RP es una patología muy heterogénea, esto genera diferencias en el proceso de enfermedad de cada paciente y con ello diferencias en las características personales de cada uno de ellos. Esto hace que los resultados puedan haberse visto influidos por dichas diferencias interpersonales. Además el que solo hubiese 2 sujetos con RP de categoría leve, hace que ese espectro de pacientes quedase sin analizar correctamente.

La muestra de pacientes abarcó un amplio rango de edad. Las preocupaciones y el estrés de una persona u otra pueden diferir por su edad (39), al igual que sus características personales. Con lo que los resultados pudieron verse condicionados por esto.

Se empleó un control de sujetos sanos extraído de un estudio previo (31). Al comparar la muestra obtenida de pacientes de RP, el rango de edad de los pacientes de RP resultó ser diferente del de los sujetos sanos del grupo control. Además existió una diferencia en la proporción de sujetos de cada sexo en los grupos, teniendo el grupo control mayor porcentaje de mujeres. Todo ello pudo influir en los resultados finales (40).

La correlación entre las medidas indicativas de gravedad y la clasificación de la severidad, muestra que las categorías de severidad fueron buenas indicadores de la función visual de los pacientes de RP, al igual que lo observado por Smith et al (36). Esta es la primera vez que se analizan los valores de AAs en pacientes de RP, con

lo que tampoco hay antecedentes del uso de esta escala para realizar comparaciones respecto a la AAs.

En nuestra muestra se ha observado un alto grado de ansiedad en los pacientes de RP. Se trata de niveles de ansiedad muy por encima de las estimaciones de la OMS para la población general, que sitúan la prevalencia de los desórdenes de ansiedad en España en un 4.1% del total de la población (41). Se encontró escasa bibliografía que estudiase el estrés en RP específicamente, puesto que la mayoría de estudios se centran en la depresión o en alteraciones psicosociales relacionadas con el estrés. Ciertos estudios obtuvieron resultados que, de manera similar a esta investigación, apuntan a que los pacientes de RP sufren ciertas alteraciones psicosociales relacionadas con la ansiedad (24, 27, 42). En comparación con los resultados de otros estudios que analizaron ansiedad en pacientes de RP, los porcentajes en nuestra investigación son muy elevados. Una investigación observó un 37% de pacientes con ansiedad en su muestra (10) y otra un 36.5% (43). Las diferencias con estas investigaciones pueden deberse a que dichos estudios emplearon otras escalas para evaluar la ansiedad, diferentes al STAI o a diferencias entre las características de su muestra y la de nuestro estudio.

Un estudio realizado por Chaumet-Riffaud et al, observó que a mayor duración de la pérdida de visión existía menor asociación con estrés (43). Por lo que, que la RP severa se asocie con una ansiedad de grado leve en el STAI-T, puede sugerir que los pacientes con RP más avanzada están más adaptados a la patología.

Los biomarcadores, entre los que se incluye la AAs, son presentados como posibles indicadores objetivos de estrés crónico, pero también pueden responder al estrés psicológico agudo (44) y se ha observado que existe relación entre el estrés crónico y el estrés oxidativo (45). Por ello la elevación de las concentraciones de AAs podría verse influenciada por otros procesos aparte del estrés crónico.

En nuestro estudio hemos observado que la AAs se encuentra elevada en los pacientes de RP respecto a sujetos sanos. Pero no se ha encontrado relación entre un mayor grado de estrés subjetivo y mayores concentraciones de AAs. Esto podría deberse a las limitaciones del estudio, a la escala de estrés empleada o la propia naturaleza de los métodos de valoración subjetivos. Precisamente uno de los



motivos de este estudio, es evitar la dependencia de las escalas subjetivas para la valoración del estrés, en favor de métodos más objetivos. Algún autor sí que ha observado relación entre unos mayores niveles de AAs y mayor estrés en base a escalas (46, 47), pero son escasos los estudios que hacen esta comparación.

No existen estudios acerca de la AAs en pacientes de RP con los que comparar nuestros resultados. Aun así, la evidencia previa indica que la AAs se encuentra elevada en situaciones de estrés en diferentes contextos, por ejemplo conflictos amorosos (48), por curas dolorosas (49) o periodos de exámenes (50). El hecho de que las concentraciones de AAs sea mayores en los sujetos enfermos que en los sanos coincide con lo que otros autores observan respecto a otras patologías como lupus eritematoso sistémico (51) o síndrome de ovario poliquístico (52). A pesar de que estas patologías no tengan relación con la RP, estos estudios concuerdan con la idea de que los valores de AAs se encuentran elevados en procesos patológicos debido al estrés que estos conllevan.

La mayor parte de la evidencia respecto a la AAs en relación a patologías, concuerda con nuestra investigación en que las concentraciones de AAs se encuentran elevadas en procesos patológicos en comparación con los sujetos sanos. Esto, según algunos autores, puede responder a la relación existente entre el sistema inmune y el sistema adrenal, tal y como sugieren Douglas et al a lo largo de sus múltiples investigaciones respecto al estrés y AAs en niños (53), basándose en lo descrito previamente por Ader et al acerca de las relaciones entre el sistema inmune y el sistema nervioso (54). Lo que parece extraerse de la evidencia existente es que en muchos procesos que desencadenan un estrés, como es el caso del proceso de enfermedad, puede verse aumentada la concentración de AAs.

## VIII.2 Limitaciones

- Existieron diferencias entre la media de edad en el grupo de la muestra y el control. También hubo diferencias en cuanto al sexo que podrían dar variaciones.
- Hubo pocos pacientes de la categoría de RP leve.
- No se estudió la repetibilidad.
- El que solo hubiese 2 sujetos con RP de categoría leve, hace que ese espectro de pacientes quedase sin analizar correctamente.
- El tamaño muestral fue insuficiente para ciertos análisis.
- Se requiere de estudios independientes para la validación de todas las asociaciones realizadas.

## VIII.3 Fortalezas

- Esta es la primera investigación que analiza el estrés y el papel de la AAs en el contexto de la RP.
- Trabajar en colaboración con una asociación de pacientes, es decir ACLARP, sirvió para acercar el mundo de la investigación a sus beneficiarios.
- La capacidad de realizar todas las pruebas y evaluaciones en un único centro (el IOBA), en solo dos visitas supone una ventaja logística. Además el estudio fue llevado a cabo por un equipo multidisciplinar y los análisis bioquímicos pudieron realizarse en el laboratorio del propio centro.

## VIII.4 Aplicaciones para la práctica y futuras líneas de investigación

Aunque se están realizando avances hacia un posible tratamiento de la RP, no debe dejarse de lado en control de los pacientes, y con los resultados de esta y futuras investigaciones se podría avanzar hacia la mejora de su calidad de vida. Los resultados de este estudio sugieren que la AAs puede ser un buen biomarcador de estrés y se pueden emplear como base para continuar investigando a fin de mejorar el manejo del estrés en la RP y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

En futuras investigaciones sería importante analizar si los valores de AAs se relacionan con el estrés percibido por los pacientes de RP. Ya que el STAI no se relacionó con mayores niveles de AAs en nuestra muestra.

Podrían plantearse investigaciones que evaluaran el estrés y los niveles de AAs pero empleando un enfoque prospectivo. A fin de poder observar las diferencias en el estrés y la AAs entre sujetos sanos y pacientes de RP a lo largo del tiempo. Además de buscar relaciones entre las concentraciones de AAs y el estrés subjetivo.

Otra idea sería analizar el efecto que intervenciones que redujesen el estrés, como soporte psico-emocional o terapias conductuales, tendrían sobre los niveles de AAs, la calidad de vida y la función visual de pacientes con RP.

De todos modos, para el planteamiento de futuras líneas de investigación sería más recomendable basarse en el conjunto de los resultados del proyecto completo “Validación de biomarcadores de estrés crónico en saliva, lágrima y pelo, en pacientes con distrofias de la retina, fundamentalmente retinitis pigmentosa”.

## IX. CONCLUSIONES

- ❖ No existió relación entre la escala de ansiedad STAI y el grado de severidad de la RP, aunque los individuos con RP tuvieron niveles elevados de ansiedad.
- ❖ No se observaron diferencias significativas entre los niveles de AAs entre las dos categorías de severidad de la RP
- ❖ Los pacientes de RP tuvieron concentraciones significativamente mayores de AAs que el grupo control.
- ❖ No se observó relación entre los grados de ansiedad y las concentraciones de AAs.

# BIBLIOGRAFÍA

1. Friedman NJ, Kaiser PK, Pineda R. Retina y coroides. En: Massachusetts Eye and Ear Infirmary Manual ilustrado de Oftalmología. 3ª. Barcelona: Elsevier; 2010.
2. Brad Bowling. Distrofias de fotorreceptores generalizadas. En: Kanski Oftalmología Clínica: un enfoque sistemático. 8ª. Barcelona: Elsevier; 2016.
3. Genetics Home Reference. Retinitis Pigmentosa [Internet]. National Library of Medicine. 2018 [consultado 27 de noviembre de 2018]. p. 1-6. Disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/retinitis-pigmentosa>
4. Asociación de Afectados de Retinosis Pigmentaria de Euskadi. Qué es la Retinosis Pigmentaria [Internet]. 2003 [consultado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.retinosispigmentaria.org/es/retinosis1.html>
5. Bakthavatchalam M, Lai FHP, Rong SS, Ng DS, Brelen ME. Treatment of cystoid macular edema secondary to retinitis pigmentosa: a systematic review. Surv Ophthalmol [Internet]. 2018 [consultado 3 de diciembre de 2018];63(3):329-39. Disponible en: [https://www.surveyophthalmol.com/article/S0039-6257\(17\)30068-1/fulltext](https://www.surveyophthalmol.com/article/S0039-6257(17)30068-1/fulltext)
6. Daruich A, Matet A, Moulin A, Kowalczyk L, Nicolas M, Sellam A, et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. Prog Retin Eye Res [Internet]. 2018 [consultado 3 de diciembre de 2018];63:20-68. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350946217300757>
7. Kierstan Boyd. Retinitis Pigmentosa Symptoms [Internet]. American Academy of Ophthalmology. 2017 [consultado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.aao.org/eye-health/diseases/retinitis-pigmentosa-symptoms>
8. National Eye Institute. Facts About Retinitis Pigmentosa [Internet]. National Eye Institute. 2014 [consultado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: [https://nei.nih.gov/health/pigmentosa/pigmentosa\\_facts](https://nei.nih.gov/health/pigmentosa/pigmentosa_facts)
9. Ameri H. Prospect of retinal gene therapy following commercialization of voretigene neparvovec-rzyl for retinal dystrophy mediated by RPE65 mutation. J Curr Ophthalmol [Internet]. 2018 [consultado 4 de enero de 2019];30(1):1-2. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452232518300180?via%3Dihub>
10. Sainohira M, Yamashita T, Terasaki H, Sonoda S, Miyata K, Murakami Y, et al. Quantitative analyses of factors related to anxiety and depression in patients with retinitis pigmentosa. 2018 [consultado 15 de mayo de 2019];1-9. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195983>

11. American Psychological Association. Stress: The different kinds of stress [Internet]. American Psychological Association. [consultado 1 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds> Disponible en: <https://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds>
12. Schetter CD, Dolbier C. Resilience in the Context of Chronic Stress and Health in Adults. Soc Personal Psychol Compass [Internet]. 2011 [consultado 1 de abril de 2019];5(9):634-52. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1751-9004.2011.00379.x>
13. Mariotti A. The effects of chronic stress on health: new insights into the molecular mechanisms of brain–body communication. Futur Sci OA [Internet]. 2015 [consultado 1 de abril de 2019];1(3). Disponible en: <https://www.future-science.com/doi/10.4155/fso.15.21>
14. Julian LJ. Measures of anxiety: State-Trait Anxiety Inventory (STAI), Beck Anxiety Inventory (BAI), and Hospital Anxiety and Depression Scale-Anxiety (HADS-A). Arthritis Care Res [Internet]. 2011 [consultado 15 de diciembre de 2018];63(SUPPL. 11):467-72. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/acr.20561>
15. Balsamo M, Romanelli R, Innamorati M, Ciccarese G, Carlucci L, Saggino A. The state-trait anxiety inventory: Shadows and lights on its construct validity. J Psychopathol Behav Assess [Internet]. 2013 [consultado 15 de diciembre de 2018];35(4):475-86. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10862-013-9354-5>
16. American Psychological Association. The State-Trait Anxiety Inventory (STAI) [Internet]. [consultado 15 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.apa.org/pi/about/publications/caregivers/practice-settings/assessment/tools/trait-state.aspx>
17. Behringer V, Borchers C, Deschner T, Möstl E, Selzer D, Hohmann G. Measurements of Salivary Alpha Amylase and Salivary Cortisol in Hominoid Primates Reveal Within-Species Consistency and Between-Species Differences. PLoS One [Internet]. 2013 [consultado 15 de diciembre de 2018];8(4). Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0060773>
18. Alcaide LMS, Rodríguez VMP, García-Seisdedos PO, Serrano JG, Martínez JLQ, Vallejo GH. Biomarcadores salivales en patología de estrés. Cien Dent [Internet]. 2016 [consultado 31 de mayo de 2019];13(2):129-33. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5744802>
19. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2009 [consultado 16 de diciembre de 2018];34(4):486-96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453009000328?via%3Dihub>
20. Proctor GB. The physiology of salivary secretion. Periodontol 2000 [Internet]. 2016 [consultado 15 de diciembre de 2018];70(1):11-25. Disponible en:

- <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/prd.12116>
21. Van Stegeren A, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: Effect of betablockade. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2006 [consultado 15 de diciembre de 2018];31(1):137-41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453005001289?via%3Dihub>
  22. Bittner AK, Haythornthwaite JA, Diener-West M, Dagnelie G. Photopsias are related in part to perceived stress and positive mood in retinitis pigmentosa. *Eye* [Internet]. 2012 [consultado 21 de febrero de 2019];26(1):101-8. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/eye2011247>
  23. Behringer V, Deschner T, Möstl E, Selzer D, Hohmann G. Stress affects salivary alpha-Amylase activity in bonobos. *Physiol Behav* [Internet]. 2012 [consultado 18 de mayo de 2019];105(2):476-82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.09.005>
  24. Bittner AK, Ibrahim MA, Haythornthwaite JA, Diener-West M, Dagnelie G. Vision test variability in retinitis pigmentosa and psychosocial factors. *Optom Vis Sci* [Internet]. 2011 [consultado 21 de febrero de 2019];88(12):1496-506. Disponible en: [https://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2011/12000/Vision\\_Test\\_Variability\\_in\\_Retinitis\\_Pigmentosa.17.aspx](https://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2011/12000/Vision_Test_Variability_in_Retinitis_Pigmentosa.17.aspx)
  25. Prem Senthil M, Khadka J, Pesudovs K. Seeing through their eyes: Lived experiences of people with retinitis pigmentosa. *Eye* [Internet]. 2017 [consultado 18 de diciembre de 2018];31(5):741-8. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/eye2016315>
  26. Latham K, Baranian M, Timmis MA, Fisher A, Pardhan S. Relative Difficulties of Daily Living Tasks with Retinitis Pigmentosa. *Optom Vis Sci* [Internet]. 2017 [consultado 18 de diciembre de 2018];94(3):317-28. Disponible en: [https://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2017/03000/Relative\\_Difficulties\\_of\\_Daily\\_Living\\_Tasks\\_with.6.aspx](https://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2017/03000/Relative_Difficulties_of_Daily_Living_Tasks_with.6.aspx)
  27. Latham K, Baranian M, Timmis M, Pardhan S. Emotional health of people with visual impairment caused by retinitis pigmentosa. *PLoS One* [Internet]. 2015 [consultado 18 de diciembre de 2018];10(12):1-17. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0145866>
  28. Azoulay L, Chaumet-Riffaud P, Roux C, Sancho S, Berdugo N, Audo I, et al. Threshold Levels of Visual Field and Acuity Loss Related to Significant Decreases in the Quality of Life and Emotional States of Patients with Retinitis Pigmentosa. *Ophthalmic Res* [Internet]. 2015 [consultado 18 de diciembre de 2018];4(2):78-84. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/435886>
  29. Moschos M, Chatzirallis A, Chatziralli I. Psychological aspects and depression in patients with retinitis pigmentosa. 2015 [consultado 18 de diciembre de 2018];25(5):459-62. Disponible en: [https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/ejo.5000590?rfr\\_dat=cr\\_pub%3](https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/ejo.5000590?rfr_dat=cr_pub%3)



[Dpubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&journalCode=ejoa](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2003/&rft_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&journalCode=ejoa)

30. Na K, Kim HJ, Kim KH, Han S, Kim P, Hann HOOJAE. Prevalence, Age at Diagnosis, Mortality, and Cause of Death in Retinitis Pigmentosa in Korea-A Nationwide Population-based Study. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2017 [consultado 25 de diciembre de 2018];176:157-65. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002939417300272?via%3Dihub>
31. Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Reliability of potential pain biomarkers in the saliva of healthy subjects: Inter-individual differences and intersession variability. *PLoS One* [Internet]. 2016 [consultado 3 de diciembre de 2018];11(12):1-12. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0166976>
32. Asociación Castellano Leonesa de Afectados por Retinosis Pigmentaria [Internet]. [consultado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.retinacastillayleon.org/home/>
33. Morales I. “ Tipos de Estudios ” [Internet]. 28/02/2001. [consultado 26 de noviembre de 2018]. Disponible en: [https://www.fisterra.com/mbe/investiga/6tipos\\_estudios/6tipos\\_estudios.asp#](https://www.fisterra.com/mbe/investiga/6tipos_estudios/6tipos_estudios.asp#)
34. Salamanca Castro AB. El aeiou de la investigación en enfermería. 2<sup>a</sup>. Madrid: Fuden; 2018.
35. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1993 [consultado 27 de mayo de 2019];694(1):72-7. Disponible en: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x?sid=nlm%3Apubmed>
36. Smith HB, Chandra A, Zambarakji H. Grading severity in retinitis pigmentosa using clinical assessment, visual acuity, perimetry and optical coherence tomography. *Int Ophthalmol* [Internet]. 2013 [consultado 5 de febrero de 2019];33(3):237-44. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10792-012-9678-2>
37. Chylack LT, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, et al. The Lens Opacities Classification System III. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 1993 [consultado 31 de mayo de 2019];111(6):831-6. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamaophthalmology/article-abstract/640261>
38. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2019. Disponible en: <https://www.r-project.org/>
39. Stone AA, Schneider S, Broderick JE. Psychological stress declines rapidly from age 50 in the United States: Yet another well-being paradox. *J Psychosom Res* [Internet]. 2017 [consultado 11 de junio de 2019];103(September):22-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychores.2017.09.016>



40. van Stegeren AH, Wolf OT, Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: Impact of sex. *Int J Psychophysiol* [Internet]. 2008 [consultado 11 de junio de 2019];69(1):33-40. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167876008000597?via%3Dihub>
41. World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates [Internet]. World Health Organization. Ginebra; 2017 [consultado 16 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254610>
42. Adhami-Moghadam F, Iran-Pour E. Psychological disorders in patients with retinitis pigmentosa in Iran. *Iran J Public Health* [Internet]. 2014 [consultado 16 de mayo de 2019];43(4):523-8. Disponible en: <http://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/4090>
43. Chaumet-Riffaud AE, Chaumet-Riffaud P, Cariou A, Devisme C, Audo I, Sahel J, et al. Impact of Retinitis Pigmentosa on Quality of Life, Mental Health and Employment Among Young Adults. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2017 [consultado 16 de mayo de 2019];177:169–174. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002939417300764?via%3Dihub>
44. Rohleder N, Nater UM, Wolf JM, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: An indicator of sympathetic activity? *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2004 [consultado 3 de junio de 2019];1032:258-63. Disponible en: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1196/annals.1314.033?sid=nlm%3Apubmed>
45. Siddiqui A, Desai NG, Sharma SB, Aslam M, Sinha UK, Madhu S V. Association of oxidative stress and inflammatory markers with chronic stress in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* [Internet]. 2019 [consultado 3 de junio de 2019]; Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dmrr.3147>
46. Unno K, Tanida N, Ishii N, Yamamoto H, Iguchi K, Hoshino M, et al. Anti-stress effect of theanine on students during pharmacy practice: Positive correlation among salivary  $\alpha$ -amylase activity, trait anxiety and subjective stress. *Pharmacol Biochem Behav* [Internet]. 2013 [consultado 3 de junio de 2019];111:128-35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2013.09.004>
47. Lim IS. Correlation between salivary alphaamylase, anxiety, and game records in the archery competition. *J Exerc Nutr Biochem* [Internet]. 2016 [consultado 11 de junio de 2019];20(4):44-7. Disponible en: <http://jenb.or.kr/ PR/view/?aidx=9089&bidx=680>
48. Laurent HK, Laurent SM, Granger DA. Salivary nerve growth factor reactivity to acute psychosocial stress: A new frontier for stress research.pdf. *Psychosom Med* [Internet]. 2013 [consultado 22 de mayo de 2019];75(8). Disponible en: <https://journals.lww.com/psychosomaticmedicine/Abstract/2013/10000/Salivary>

[Nerve Growth Factor Reactivity to Acute.7.aspx](#)

49. Brown NJ, Kimble RM, Rodger S, Ware RS, Mcwhinney BC, Ungerer JPJ, et al. Biological markers of stress in pediatric acute burn injury. *Burns* [Internet]. 2014 [consultado 22 de mayo de 2019];40(5):1-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2013.12.001>
50. Fukuda S, Baba S, Akasaka T. Psychological stress has the potential to cause a decline in the epidermal permeability barrier function of the horny layer. *Int J Cosmet Sci* [Internet]. 2015 [consultado 19 de mayo de 2019];37(1):63-9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ics.12169>
51. Jung JY, Nam JY, Kim HA, Suh CH. Elevated salivary alpha-Amylase level, association between depression and disease activity, and stress as a predictor of disease flare in systemic lupus Erythematosus: A prospective case-control study. *Med (United States)* [Internet]. 2015 [consultado 19 de mayo de 2019];94(30):1-7. Disponible en: [https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2015/07050/Elevated\\_Salivary\\_Alpha\\_Amylase\\_Level,\\_Association.12.aspx](https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2015/07050/Elevated_Salivary_Alpha_Amylase_Level,_Association.12.aspx)
52. Basu BR, Chowdhury O, Saha SK. Possible Link Between Stress-related Factors and Altered Body Composition in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *J Hum Reprod Sci* [Internet]. 2018 [consultado 19 de mayo de 2019];11(1):10-8. Disponible en: <http://www.jhrsonline.org/article.asp?issn=0974-1208;year=2018;volume=11;issue=1;spage=10;epage=18;aulast=Basu>
53. Granger DA, Kivlighan KT, Blair C, El-sheikh M, Mize J, Lisonbee JA, et al. Integrating the measurement of salivary  $\alpha$ -amylase into studies of child health , development , and social relationships. *J Soc Pers Relat* [Internet]. 2006 [consultado 19 de mayo de 2019];23(2):267-90. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0265407506062479>
54. Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology : interactions system and the immune system. *Lancet* [Internet]. 1995 [consultado 19 de mayo de 2019];345(8942):99-103. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673695900667?via%3Dihub>



# ANEXOS

# ANEXO I

## Técnica y recomendaciones para la recogida de saliva

Se deben seguir las siguientes recomendaciones para realizar correctamente la recolección de la saliva:

- El paciente no debe comer, beber, (todo menos agua), tomar chicles o lavarse los dientes al menos uno antes de la recogida de la muestra.
- El consumo de cafeína aguda se debe evitar una hora antes de la extracción.
- El ejercicio se debe evitar antes de la participación en el estudio. (no pone tiempo).
- Justo antes de la toma de saliva se realizará un enjuague con agua limpia durante 5 minutos para evitar la contaminación de la saliva con restos de alimentos y la activación del flujo salivar.
- El paciente tienen que tragar toda la saliva de la boca antes de empezar la recogida de la muestra.
- El paciente debe depositar en el tubo de forma intermitente toda la saliva que fuese acumulando durante un período de 5 minutos. Aproximadamente, se necesita 1 ml de saliva para la determinación. Se recogerán 4-5 ml de saliva en cada tubo.
- Es importante aclarar que en este método de recolección no puede existir estimulación intencionada de la saliva, como pueden ser estímulos gustativos como el ácido cítrico 109 o estímulos mecánicos utilizando la masticación de parafina.<sup>110</sup>
- No se recogerán muestras cuando hay enfermedades bucales, inflamación o lesiones de la boca. Si existiera una contaminación por sangre visible en la muestra del paciente, ésta deberá ser descartada, se esperará 10 minutos y se recogerá una nueva muestra.

## ANEXO II

| NÚMERO |  | FECHA |  |  | INICIALES PACIENTE |  |             | VISITA |
|--------|--|-------|--|--|--------------------|--|-------------|--------|
|        |  |       |  |  |                    |  | 1 - INICIAL |        |

FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

| DATOS DEMOGRÁFICOS   | PONER PEGATINA |
|--|----------------|
| <b>Nombre:</b><br><b>Fecha de nacimiento:</b> ___ / ___ / _____<br><b>Edad:</b><br><b>Domicilio:</b><br><b>Teléfono:</b> |                |

| AGUDEZA VISUAL |  |      |  | AGUDEZA VISUAL            |  |
|----------------|--|------|--|---------------------------|--|
| <b>AV</b>      |  |      |  | <b>Refracción lentes.</b> |  |
| AVsc           |  | AVcc |  |                           |  |
| OD             |  | OD   |  | OD                        |  |
| OI             |  | OI   |  | OI                        |  |

CD=Cuenta dedos; MM=Movimiento manos; PL: percibe luz; NPL: no percibe luz.

| CORRECCIÓN VISUAL  |                             |                             |      |               |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|------|---------------|
| Gafas              | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |      |               |
| Lentes de contacto | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | Tipo | Tiempo        |
|                    |                             |                             |      | Patrón de uso |



| NÚMERO |  | FECHA |  |  | INICIALES PACIENTE |  |  | VISITA             |  |
|--------|--|-------|--|--|--------------------|--|--|--------------------|--|
|        |  |       |  |  |                    |  |  | <b>1 - INICIAL</b> |  |

|                                       | Schnellen | Decimal | OD (Ojo Derecho)<br>Chart 1 |   |   |   |   | Número de letras<br>leídas a 4 metros |  | Schnellen                             | Decimal | OS (Ojo Izquierdo)<br>Chart 2 |   |   |   |   | Número de letras<br>leídas a 4 metros |       |
|---------------------------------------|-----------|---------|-----------------------------|---|---|---|---|---------------------------------------|--|---------------------------------------|---------|-------------------------------|---|---|---|---|---------------------------------------|-------|
|                                       |           |         | N                           | C | K | Z | O |                                       |  |                                       |         | D                             | S | R | K | N |                                       |       |
| 1                                     | 20/200    | 0.1     | N                           | C | K | Z | O | _____                                 |  | 1                                     | 20/200  | 0.1                           | D | S | R | K | N                                     | _____ |
| 2                                     | 20/160    | 0.125   | R                           | H | S | D | K | _____                                 |  | 2                                     | 20/160  | 0.125                         | C | K | Z | O | H                                     | _____ |
| 3                                     | 20/125    | 0.16    | D                           | O | V | H | R | _____                                 |  | 3                                     | 20/125  | 0.16                          | O | N | R | K | D                                     | _____ |
| 4                                     | 20/100    | 0.2     | C                           | Z | R | H | S | _____                                 |  | 4                                     | 20/100  | 0.2                           | K | Z | V | D | C                                     | _____ |
| 5                                     | 20/80     | 0.25    | O                           | N | H | R | C | _____                                 |  | 5                                     | 20/80   | 0.25                          | V | S | H | Z | O                                     | _____ |
| 6                                     | 20/63     | 0.32    | D                           | K | S | N | V | _____                                 |  | 6                                     | 20/63   | 0.32                          | H | D | K | C | R                                     | _____ |
| 7                                     | 20/50     | 0.4     | Z                           | S | O | K | N | _____                                 |  | 7                                     | 20/50   | 0.4                           | C | S | R | H | N                                     | _____ |
| 8                                     | 20/40     | 0.5     | C                           | K | D | N | R | _____                                 |  | 8                                     | 20/40   | 0.5                           | S | V | Z | D | K                                     | _____ |
| 9                                     | 20/32     | 0.63    | S                           | R | Z | K | D | _____                                 |  | 9                                     | 20/32   | 0.63                          | N | C | V | O | Z                                     | _____ |
| 10                                    | 20/25     | 0.8     | H                           | Z | O | V | C | _____                                 |  | 10                                    | 20/25   | 0.8                           | R | H | S | D | V                                     | _____ |
| 11                                    | 20/20     | 1.00    | N                           | V | D | O | K | _____                                 |  | 11                                    | 20/20   | 1.00                          | S | N | R | O | H                                     | _____ |
| 12                                    | 20/16     | 1.25    | V                           | H | C | N | O | _____                                 |  | 12                                    | 20/16   | 1.25                          | O | D | H | K | R                                     | _____ |
| 13                                    | 20/12.5   | 1.6     | S                           | V | H | C | Z | _____                                 |  | 13                                    | 20/12.5 | 1.6                           | Z | K | C | S | N                                     | _____ |
| 14                                    | 20/10     | 2.00    | O                           | Z | D | V | K | _____                                 |  | 14                                    | 20/10   | 2.00                          | C | R | H | D | V                                     | _____ |
| <b>Total # correctas a 4 metros =</b> |           |         |                             |   |   |   |   | _____                                 |  | <b>Total # correctas a 4 metros =</b> |         |                               |   |   |   |   |                                       | _____ |

| NÚMERO |  | FECHA |  |  | INICIALES PACIENTE |  |  | VISITA             |  |
|--------|--|-------|--|--|--------------------|--|--|--------------------|--|
|        |  |       |  |  |                    |  |  | <b>1 - INICIAL</b> |  |

|                                     | Schnellen | Decimal | OD (Ojo Derecho)<br>Chart 1 |   |   |   |   | Número de letras<br>leído correctamente<br>a 1 metro |  |                                     | Schnellen | Decimal | OS (Ojo Izquierdo)<br>Chart 2 |   |   |   |   | Número de letras<br>leído correctamente<br>a 1 metro |
|-------------------------------------|-----------|---------|-----------------------------|---|---|---|---|--|--|-------------------------------------|-----------|---------|-------------------------------|---|---|---|---|--|
|                                     |           |         | N                           | C | K | Z | O |  |  |                                     |           |         | D                             | S | R | K | N |  |
| 1                                   | 20/800    | 0.025   | N                           | C | K | Z | O | _____  |  | 1                                   | 20/800    | 0.025   | D                             | S | R | K | N | _____  |
| 2                                   | 20/640    | 0.032   | R                           | H | S | D | K | _____  |  | 2                                   | 20/640    | 0.032   | C                             | K | Z | O | H | _____  |
| 3                                   | 20/500    | 0.04    | D                           | O | V | H | R | _____  |  | 3                                   | 20/500    | 0.04    | O                             | N | R | K | D | _____  |
| 4                                   | 20/400    | 0.05    | C                           | Z | R | H | S | _____  |  | 4                                   | 20/400    | 0.05    | K                             | Z | V | D | C | _____  |
| 5                                   | 20/320    | 0.063   | O                           | N | H | R | C | _____  |  | 5                                   | 20/320    | 0.063   | V                             | S | H | Z | O | _____  |
| 6                                   | 20/250    | 0.08    | D                           | K | S | N | V | _____  |  | 6                                   | 20/250    | 0.08    | H                             | D | K | C | R | _____  |
| <b># Total correcto a 1 metro =</b> |           |         |                             |   |   |   |   | _____  |  | <b># Total correcto a 1 metro =</b> |           |         |                               |   |   |   |   | _____  |

Si el paciente NO leyó ninguna letra a 4 ni a 1 metro complete la siguiente sección para valorar la agudeza visual del paciente:

CD: cuenta dedos; MM: movimiento manos; PL: percibe luz; NPL: no percibe luz.

Si el total a 4 metros es  $\geq 20$  letras leídas correctamente, la agudeza visual mejor corregida total será la suma del total de letras leídas correctamente a 4 metros, más 30 añadido a ese número. Si el total a 4 metros es  $< 20$  letras leídas correctamente, la agudeza visual mejor corregida será la suma del número total de letras leídas correctamente a 4 metros más las leídas correctamente a 1 metro.

| NÚMERO |  | FECHA |  |  | INICIALES PACIENTE |  |             | VISITA |
|--------|--|-------|--|--|--------------------|--|-------------|--------|
|        |  |       |  |  |                    |  | 1 - INICIAL |        |

| RECOGIDA DE LÁGRIMA (los impares se empieza por el OD y los pares por el OI)                        |     |            |   |                    |       |
|---|-----|------------|---|--------------------|-------|
| Al menos 1h antes sin sustitutos lagrimales Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |     |            |   |                    |       |
| Nº  | Ojo | Etiquetado | Cantidad  | Fecha ___/___/___  | Hora  |
| 1   |     |            | 1µl <input type="checkbox"/>                              | Buffer citoquinas  | __:__ |
| 2   |     |            | 1µl <input type="checkbox"/> 1µl <input type="checkbox"/> | Buffer Sustancia P | __:__ |
| 4   |     |            | 1µ <input type="checkbox"/>                               | Buffer NGF         | __:__ |
| Etiquetado= NHC-nºmuestra ej: 45678-1   |     |            |   | Congelar a -80°C   |       |

| RECOGIDA DE SALIVA  |          |       |                  |
|---|----------|-------|------------------|
| Al menos 1h antes sin comer Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |          |       |                  |
| Enjuague bucal (5 veces)  |          |       |                  |
| Etiquetado  | Cantidad | Fecha | Hora             |
|   |          |       |                  |
|   |          |       | Congelar a -20°C |

| RECOGIDA DE PELO  |       |          |      |              |
|---|-------|----------|------|--------------|
| Teñido <input type="checkbox"/> Moldeado <input type="checkbox"/> Decolorado <input type="checkbox"/> Planchado <input type="checkbox"/> Gomina <input type="checkbox"/> Espuma <input type="checkbox"/> Laca <input type="checkbox"/> Aceites <input type="checkbox"/> |       |          |      |              |
| Hora  | Color | Longitud | Zona | Tratamientos |
|   |       |          |      |              |
| Etiquetado:   |       |          |      |              |

| REALIZACION DE CAMPIMETRIA |          |
|----------------------------|----------|
| Fecha                      | operador |
|                            |          |

| REALIZACION DEL OCT |          |
|---------------------|----------|
| Fecha               | operador |
|                     |          |



# CUADERNILLO DE CUESTIONARIOS 1º SESIÓN

- 1- Cuestionario de Calidad del Sueño (PSQI)
- 2- Escala de somnolencia de Epworth
- 3- Cuestionario de ansiedad Estado- ansiedad Rasgo

Nombre:

Género:

Edad:

Número de personas que componen la unidad familiar:

Ha tenido algún evento en las últimas semanas que le haya hecho sentir especialmente alegre o triste (tipo fallecimiento de una persona próxima, enfermedad, problema familiar, cambio de trabajo). No hace falta especificar cuál: Sí/No

A continuación va a responder a tres cuestionarios sobre calidad del sueño, somnolencia y ansiedad. Los cuestionarios tienen las preguntas numeradas. Intente contestar a todas las preguntas donde aparezca un espacio entre corchetes “[ ]”. No hay respuestas buenas ni malas, no se detenga demasiado en pensar cada pregunta, conteste aquello que mejor refleje su situación en la mayoría de los días.

Toda la información contenida en este documento es confidencial. Su utilización se hará exclusivamente con fines científicos y no podrá ser divulgada sin el previo consentimiento expreso del paciente.

## Calidad del sueño: Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI)

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 cama. [hora]
5. Durante el último mes, ¿Con qué frecuencia ha tenido problemas de sueño por alguna de las siguientes causas? Indicar la respuesta correcta o más aproximada para cada una de las siguientes preguntas. Por favor, responda a todas las preguntas.
  - 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.- Durante 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

### Escala de Somnolencia Epworth

Este cuestionario pretende valorar la facilidad para amodorrarse o quedarse dormido en cada una de las diferentes situaciones. Aunque no haya vivido alguna de estas situaciones recientemente, intente imaginar cómo le habría afectado.

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

## Ansiedad: State-Trait Anxiety Inventory (STAI)

### Ansiedad-Estado

A continuación encontrará unas frases que se utilizan corrientemente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la opción que indique mejor cómo **se siente usted ahora mismo**, en este momento. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa su situación presente.

Me siento calmado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento seguro: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento tenso: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy contrariado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento a gusto: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento alterado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento descansado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento angustiado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento confortable: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Tengo confianza en mí mismo: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento nervioso: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy desasegado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento muy atado (como oprimido): [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy relajado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento satisfecho: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy preocupado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento aturdido: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento alegre: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

En este momento me siento bien: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho



## Ansiedad-Rasgo

A continuación encontrará unas frases que se utilizan corrientemente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la opción que indique mejor cómo **se siente usted en general**, en la mayoría de las ocasiones. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa cómo se siente usted generalmente.

Me siento bien: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me canso rápidamente: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Siento ganas de llorar: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me gustaría ser tan feliz como otros: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Pierdo oportunidades por no decidirme rápido: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me siento descansado: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Soy una persona tranquila: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Veo que las dificultades se amontonan: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me preocupo demasiado por cosas sin importancia: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Soy feliz: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Suelo hacer las cosas demasiado seriamente: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me falta confianza en mí mismo: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me siento seguro: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

No suelo afrontar las crisis o las dificultades: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me siento triste: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Estoy satisfecho: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me rondan y molestan pensamientos sin importancia: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Me afectan tanto los desengaños que no puedo olvidarlos: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Soy una persona estable: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

Cuando pienso en asuntos y preocupaciones actuales me pongo tenso y agitado: [  Casi nunca, [  A veces, [  A menudo, [  Casi siempre

**Fin de los cuestionarios. Muchas gracias por su colaboración.**

| NÚMERO |  | FECHA |  |  | INICIALES PACIENTE |  |                  | VISITA |
|--------|--|-------|--|--|--------------------|--|------------------|--------|
|        |  |       |  |  |                    |  | <b>2 - FINAL</b> |        |

| RECOGIDA DE SALIVA  |          |                          |      |
|---|----------|--------------------------|------|
| Al menos 1h antes sin comer Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |          | Enjuague bucal (5 veces) |      |
| Etiquetado  | Cantidad | Fecha                    | Hora |
|   |          |                          |      |
| Congelar a -20°C  |          |                          |      |

Revisar que se han realizado las siguientes pruebas en la vista 1. Si no realizarlas en esta visita:

- Campimetría
- OCT
- Recogida de lágrima
- Recogida de pelo

| EXPLORACION OFTALMOLÓGICA |  |
|---------------------------|--|
| Oftalmólogo               |  |

# CUADERNILLO DE CUESTIONARIOS

## 2º SESIÓN

### 1- Cuestionario de ansiedad Estado

Nombre:

Ha tenido algún evento en los últimos días que le haya hecho sentir especialmente alegre o triste (tipo fallecimiento de una persona próxima, enfermedad, problema familiar, cambio de trabajo). No hace falta especificar cuál: Sí/No

A continuación va a responder un cuestionario sobre ansiedad. Intente contestar a todas las preguntas donde aparezca un espacio entre corchetes “[ ]”. No hay respuestas buenas ni malas, no se detenga demasiado en pensar cada pregunta, conteste aquello que mejor refleje su situación en la mayoría de los días.

Toda la información contenida en este documento es confidencial. Su utilización se hará exclusivamente con fines científicos y no podrá ser divulgada sin el previo consentimiento expreso del paciente.

## Ansiedad: State-Trait Anxiety Inventory (STAI)

### Ansiedad-Estado

A continuación encontrará unas frases que se utilizan corrientemente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la opción que indique mejor cómo **se siente usted ahora mismo**, en este momento. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa su situación presente.

Me siento calmado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento seguro: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento tenso: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy contrariado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento a gusto: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento alterado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento descansado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento angustiado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento confortable: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Tengo confianza en mí mismo: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento nervioso: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy desasegado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento muy atado (como oprimido): [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy relajado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento satisfecho: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Estoy preocupado: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento aturdido: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

Me siento alegre: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

En este momento me siento bien: [ ]nada, [ ]algo, [ ]bastante, [ ]mucho

# Fin de los cuestionarios.

# Muchas gracias por su colaboración.

# ANEXO III



## COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE (CEIC-VA-ESTE-HCUV)

Valladolid a 15 de febrero de 2018

En la reunión del CEIC/CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE del 15 de febrero de 2018, se procedió a la evaluación de los aspectos éticos del siguiente proyecto de investigación.

|                           |   |   |
|---------------------------|---|---|
| PI-GR-18-938<br>PI 17-732 | VALIDACIÓN DE BIOMARCADORES DE ESTRÉS CRÓNICO EN SALIVA, LÁGRIMA Y PELO, EN PACIENTES CON DISTROFIAS DE LA RETINA, FUNDAMENTALMENTE RETINITIS PIGMENTOSA. | I.P.: SALVADOR PASTOR IDOATE<br>EQUIPO: JOSE CARLOS PASTOR, M <sup>a</sup> ISABEL LÓPEZ, ANDRES EDUARDO VALISEÑA, ANTONIO DUEÑAS, ROSA COCO, EVA M <sup>a</sup> SOBAS, AMANDA VAZQUEZ, ITZIAR PINILLA, ANDRES GALVEZ, |
|---------------------------|---|---|

A continuación les señalo los acuerdos tomados por el CEIC/CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE en relación a dicho Proyecto de Investigación:

Considerando que el Proyecto (y la Hoja de Información al Paciente/consentimiento Informado) contempla los Convenios y Normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, se hace constar el **informe favorable** y la **aceptación** del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Este para que sea llevado a efecto dicho Proyecto de Investigación.

Un cordial saludo.



F. Javier Álvarez  
Dr. F. Javier Álvarez.

CEIC/CEIm Área de Salud Valladolid Este –  
Hospital Clínico Universitario de Valladolid  
Farmacología  
Facultad de Medicina,  
Universidad de Valladolid,  
c/ Ramón y Cajal 7,  
47005 Valladolid  
alvarez@med.uva.es, jalvarezgo@saludcastillayleon.es  
tel.: 983 423077

ALVAREZ  
GONZALEZ  
FRANCISCO  
JAVIER -  
09721299G

Firmado digitalmente por  
ALVAREZ GONZALEZ  
FRANCISCO JAVIER - 09721299G  
Nombre de reconocimiento  
(DN): c=ES,  
serialNumber=IDCES-09721299  
G, givenName=FRANCISCO  
JAVIER, sn=ALVAREZ GONZALEZ,  
cn=ALVAREZ GONZALEZ  
FRANCISCO JAVIER - 09721299G  
Fecha: 2018.02.15 14:17:22  
+01'00'

# ANEXO IV

|  |  |  |   |
|--|--|--|---|
|  <p>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br/>C/ Ramón y Cajal, 3<br/>47005 - VALLADOLID</p> | <p><b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b></p> <p><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b></p> <p><b>Versión 6 de 22-09-2015</b></p> | <p>Código FO-P-07-03<br/>:<br/>Edición 02<br/>:<br/>Unidad HCUV<br/>Fecha: 22/09/2015<br/><br/>Pág.: - 55 - de 6</p> |  |
|--|--|--|---|

## DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS

HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID

Versión 6 de 22-09-2015

**SERVICIO / UNIDAD: OFTALMOLOGÍA**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE: SALVADOR PASTOR IDOATE**

**TELÉFONO DE CONTACTO: 690179835    EMAIL: pastor.idoate@gmail.com**

**NOMBRE DE LA LÍNEA DE TRABAJO: Biomarcadores de estrés en distrofias retinianas**



**VERSIÓN DE DOCUMENTO: (Número de versión, fecha):1, 13-02-2018**

-----  
-----

### **I) Finalidad de la línea de trabajo propuesta:**

La finalidad del presente proyecto es identificar moléculas, potenciales biomarcadores, específicamente implicados en el stress, en la aparición o agravamiento de patología retiniana y genéricamente implicados en la inflamación que pudiesen servir como predictores de progresión de enfermedad o de respuesta al tratamiento en pacientes con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa. Además, se pretende correlacionar los niveles en saliva, lágrima y pelo de Cortisol, sRIITNFalpha, IgAS, melatonina, Sustancia P, GNF beta y Capacidad Antioxidante Total con datos clínicos objetivos (disminución de agudeza visual, presencia de presencia de fibrosis o atrofia) datos objetivos de las exploraciones (aumento del grosor retiniano, aumento de pérdida del campo visual, grosor de capa de fibras nerviosas) y datos clínicos subjetivos mediante cuestionarios de calidad de vida y sueño en los pacientes con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa.

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 con el objetivo de mejorar los resultados. También, estos biomarcadores podrían ser una herramienta útil para una evaluación objetiva de los beneficios de los tratamientos aplicados a los pacientes con el objetivo de poder mejorar la calidad, efectividad y eficiencia de dichas tratamientos. También estos biomarcadores podrían servir como futuras dianas terapéuticas no solo para el tratamiento de la Retinitis Pigmentosa sino también para otras distrofias retinianas.

|  |  |  |   |
|--|--|--|---|
|  <p>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br/>C/ Ramón y Cajal, 3<br/>47005 - VALLADOLID</p> | <p><b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b></p> <p><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b></p> <p><b>Versión 6 de 22-09-2015</b></p> | <p>Código FO-P-07-03<br/>Edición 02<br/>Unidad HCUV<br/>Fecha: 22/09/2015<br/>Pág.: 2 de 6</p> |  <p>Sacyl<br/>SALUD DE CASTILLA Y LEÓN</p> |
|--|--|--|---|

## 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 Plan de Calidad con aplicación de propuestas de mejora.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros clínicos y biomarcadores relacionados con la stress y progresión de la enfermedad en con distrofias retinianas, fundamentalmente Retinitis Pigmentosa.
- Comparar los datos clínicos obtenidos y la presencia de Cortisol, sRIITNFalpha, IgAS melatonina, Capacidad Antioxidante Total en muestras de saliva, Citoquinas, Sustancia P y NGF beta en lágrima y cortisol en pelo.
- Comparar los datos anatomopatológicos obtenidos con el OCT y los datos de densidad vascular foveal mediante el OCT-A y 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 pacientes con distrofias retiniana, 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.

|  |   |  |  |
|--|---|--|--|
| <br>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br>C/ Ramón y Cajal, 3<br>47005 - VALLADOLID | <b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b><br><br><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b><br><br><b>Versión 6 de 22-09-2015</b> | Código FO-P-07-<br>: 03<br>Edición 02<br>:<br>Unidad HCUV<br>Fecha: 22/09/2015<br><br>Pág.: 3 de 6 | <br>Sacyl<br>SALUD DE CASTILLY LEÓN |
|--|---|--|--|

C) Se solicita su autorización para la toma y uso en investigación biomédica de muestras de saliva, lágrima y pelo. En dichas muestras se obtendrán y/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 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 las mismas serán almacenados y custodiados en **IOBA-Universidad de Valladolid**, lugar designado para este 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.

|  |  |   |   |
|--|--|---|---|
|  <p>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br/>C/ Ramón y Cajal, 3<br/>47005 - VALLADOLID</p> | <p><b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b></p> <p><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b></p> <p><b>Versión 6 de 22-09-2015</b></p> | <p>Código FO-P-07-<br/>: 03<br/>Edición : 02<br/>Unidad HCUV<br/>Fecha: 22/09/2015<br/>Pág.: 4 de 6</p> |  |
|--|--|---|---|

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. En todo momento el donante tendrá derecho de acceso, rectificación o cancelación de los datos depositados en la base de datos siempre que expresamente lo solicite. Para ello deberá ponerse en contacto con el investigador principal. Los datos quedarán custodiados bajo la responsabilidad del Investigador Principal del Estudio, **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 solicitará antes autorización al CEIC (Comité Ético de Investigación Clínica) del Área de Salud 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 sobre sus muestras aporten información relevante para su salud o la de sus familiares. Vd. tiene derecho a conocerla y transmitirla 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.

|  |  |  |   |
|--|--|--|---|
|  <p>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br/>C/ Ramón y Cajal, 3<br/>47005 - VALLADOLID</p> | <p><b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b></p> <p><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b></p> <p><b>Versión 6 de 22-09-2015</b></p> | <p>Código FO-P-07-<br/>: 03<br/>Edición 02<br/>:<br/>Unidad HCUV<br/>Fecha: 22/09/2015<br/>Pág.: - 63 - de 6</p> |  <p>Sacyl<br/>SANIDAD DE CASTILYA Y LEÓN</p> |
|--|--|--|---|

## CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.

### Estudio BIOMARCADORES DE ESTRÉS CRÓNICO EN SALIVA, LAGRIMA Y PELO , EN PACIENTES CON DISTROFIAS DE LA 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 necesite 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 sobre mis muestras / datos aporten información relevante para mi salud o la de mis familiares ...SI..... NO (marcar con una X lo que proceda)

|   |  |   |  |
|---|--|---|--|
| <br>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO<br>C/ Ramón y Cajal, 3<br>47005 - VALLADOLID | <b>DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO<br/>INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA<br/>QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b><br><br><b>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID</b><br><br>Versión 6 de 22-09-2015 | Código FO-P-07-<br>: 03<br>Edición : 02<br>Unidad HCUV<br>Fecha: 22/09/2015<br><br>Pág.: 6 de 6 |  |
|---|--|---|--|

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

---

FIRMA DEL PACIENTE / REPRESENTANTE LEGAL  
FECHA

NOMBRE Y APELLIDOS

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

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.**

**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:**



# ANEXO V



Universidad de Valladolid

**IOBA****Clausula de Confidencialidad**

D. / Dña. Carlos López Alfonso  
en adelante el firmante, se compromete, tanto durante la estancia en el IOBA de la Universidad de Valladolid, como una vez extinguida la relación con el IOBA, al más estricto deber de confidencialidad y secreto respecto de toda la información que reciba como consecuencia de su visita, prácticas o estancia en el Instituto y toda la información generada en los estudios o actos clínicos realizados en el mismo. Igualmente, se compromete, tanto en el desarrollo habitual de su trabajo, como fuera del mismo, a actuar con la debida cautela y lealtad para no dañar los intereses de la Universidad de Valladolid – IOBA y respetar los derechos de los pacientes del mismo.

A tales efectos, se considerará conducta desleal no sólo la divulgación de la información que el firmante hubiera adquirido como consecuencia de esta estancia, y la utilización de la misma en beneficio propio o de tercero, sino toda negociación con miras a una futura divulgación de la citada información.

El firmante no podrá disponer de los documentos, bienes, proyectos, experimentos, pruebas o materiales del IOBA a que tenga acceso, con otro objeto que el desarrollo del proyecto a su cargo o las prácticas realizadas, salvo en caso de previa autorización expresa por escrito del Consejo del IOBA. Asimismo, declara su intención de seguir las instrucciones que en el futuro pueda dictar el IOBA en relación con el tratamiento de la información privilegiada de la que pueda disponer.

Todos los documentos, bienes, proyectos, experimentos, pruebas o materiales que se encuentren en posesión del firmante como consecuencia del desarrollo del proyecto o sus prácticas, deberán ser devueltos al IOBA, tan pronto como se produzca la finalización de la estancia, o de forma inmediata en cuanto le sean requeridos.

Si el firmante incumpliera las obligaciones de esta cláusula, el IOBA podrá reclamarle los daños y perjuicios que se le hubieran producido, además de las cantidades que hubiera percibido como compensación económica, desde el momento en que se origine el incumplimiento. No obstante y por este contrato, las partes fijan una indemnización en el caso de divulgación de cualquier información o incumplimiento de la presente cláusula por un importe equivalente a un mes de su salario, cantidad que deberá ser entregada por el firmante en el caso de que la Universidad de Valladolid le requiera por incumplir la presente cláusula, todo ello sin perjuicio de las posibles responsabilidades penales en que se pueda incurrir.

El firmante se compromete a guardar la máxima reserva y secreto sobre los datos de carácter personal de los sujetos en proyectos de investigación o en actos clínico/quirúrgicos ordinarios a los que acceda con motivo del desempeño de sus tareas, especialmente cuando éstos hagan referencia a datos de salud. Así mismo, se compromete a no divulgar dichos datos, así como a no publicarlos ni ponerlos a disposición de terceros, bien directamente, bien a través de terceras personas o empresas.

De igual modo, el firmante se compromete, tras la extinción del presente contrato, a no conservar copia alguna de documentación en la que puedan constar datos de carácter personal de los sujetos en una investigación clínica.

El firmante reconoce que la legislación sobre protección de datos personales establece una serie de obligaciones respecto al acceso a datos de carácter personal. A tal efecto, el firmante se compromete al acceder a los datos de carácter personal de los sujetos, a cumplir la normativa de protección de datos y a lo especificado en el protocolo de actuación en ensayos clínicos y otras investigaciones clínicas, así como en lo dispuesto en la legislación que regula la atención médica.

Las obligaciones de confidencialidad establecidas en el presente contrato tendrán una duración indefinida, manteniéndose en vigor con posterioridad a la finalización de la relación entre el Centro y el firmante.

Las partes se someten expresamente para cualquier controversia o litigio que se pueda derivar del incumplimiento de las presentes cláusulas a los Juzgados de Valladolid.

En Valladolid, a 19/11/2018

Fdo.: Carlos

D. / Dña. Carlos López Alfonso