

Resumen

Las distrofias hereditarias de la retina (DHR) son un conjunto de trastornos caracterizados por la muerte, generalmente, progresiva de fotorreceptores y células del epitelio pigmentario retiniano. Las DHR afectan a más de 2 millones de personas en el mundo, produciendo una pérdida parcial y, en muchos casos, total de la visión, para la cual no existe ningún tratamiento que revierta o frene la progresión de la enfermedad. Se caracterizan por una elevada heterogeneidad clínica y genética, identificándose hasta la fecha mutaciones en más de 250 genes responsable de algún tipo de DHR.

Esta tesis doctoral se ha centrado en el diagnóstico genético de 208 pacientes afectados de DHR no sindrómica (DHR-NS), mediante secuenciación masiva dirigida a un panel de 117 genes y cinco regiones intrónicas profundas en las que previamente se habían descrito mutaciones. Las variantes identificadas en los pacientes se priorizaron de acuerdo a la mínima frecuencia alélica y se clasificaron según los criterios de la guía del *American College of Medical Genetics and Genomics*. Las variantes de número de copias identificadas mediante la secuenciación del panel se validaron utilizando *multiplex ligation-dependent probe amplification* o *array* genómico. A todos los pacientes se les realizó un estudio oftalmológico, más o menos exhaustivo, incluyendo pruebas electrofisiológicas. Además, se realizaron ensayos *in vitro* con minigenes para comprobar la repercusión de ciertas variantes sobre el procesamiento del ARNm. Para ello, se empleó el plásmido pSPL3 en el que se introdujo la mutación a estudio, la transformación se realizó en bacterias *E. coli* electrocompetentes y la transfección en células HEK-293.

Mediante la secuenciación del panel de genes, se obtuvo una tasa diagnóstica del 60%. Las mutaciones en los pacientes resueltos se distribuyeron en 30 genes diferentes, de las cuales 38 se describen por primera vez en este trabajo. Los genes mutados con mayor frecuencia en estos pacientes fueron *ABCA4*, *USH2A*, *RPGR* y *PRPH2*. Adicionalmente, se identificaron ocho variantes de número de copias en los genes *EYS*, *ABCA4*, *PRPF31*, *MERTK*, *CRB1* y *ROM1*, demostrando el enorme potencial de estas tecnologías. En total, se reclasificaron el 10% de las familias estudiadas y se observó variabilidad fenotípica intra e inter familiar en pacientes con mutaciones en *C1QTNF5*, *CERKL* y *PROM1*. Además, destacamos que el 50% de las mujeres heterocigotas para *RPGR* y sintomáticas presentaron retinosis pigmentaria (RP) con asimetría interocular. Asimismo, se identificó un caso con posible digenismo entre los genes *CNGA1* y *CNGB1*, y la duplicación completa de *ROM1* en dos familias no relacionadas diagnosticadas de RP. Por otra parte, se han identificado seis familias con mutaciones en dos genes que potencialmente ambos podrían ser la causa de la DHR. En el ensayo funcional mediante minigenes, se observó que cinco de las variantes analizadas presentaron un *splicing* aberrante.

Los resultados de esta tesis destacan la utilidad clínica de la secuenciación masiva dirigida para las DHR-NS y la importancia de un examen oftalmológico completo que nos permita establecer nuevas asociaciones genotipo-fenotipo y ampliar el conocimiento de este grupo de enfermedades. Identificar la causa de la enfermedad es esencial para mejorar el manejo del paciente, realizar un asesoramiento genético preciso y beneficiarse de los tratamientos basados en terapia génica.