

I. INTRODUCCIÓN	27
1. LA VISIÓN.....	29
1.1. Anatomía del ojo humano.....	29
1.2. Estructura y función de la retina.....	30
1.3. Los fotorreceptores.....	32
1.4. Fototransducción.....	34
1.5. Ciclo visual.....	35
2. DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA.....	37
2.1. Clasificación de las DHR.....	37
2.2. DHR sindrómicas.....	45
2.3. Heterogeneidad clínica y genética.....	46
3. DIAGNÓSTICO ELECTROFISIOLÓGICO DE LAS DHR.....	50
3.1. Potencial evocado visual.....	50
3.2. Electroretinograma.....	51
3.3. Electrooculograma.....	52
4. DIAGNÓSTICO OFTALMOLÓGICO DE LAS DHR.....	54
5. DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE LAS DHR.....	57
5.1. Estudio funcional de las mutaciones que afectan al <i>splicing</i>	59
6. APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS DHR.....	64
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	69
1. HIPÓTESIS.....	71
2. OBJETIVOS.....	72
III. MATERIAL Y MÉTODOS	73
1. SUJETOS DEL ESTUDIO.....	75
2. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN.....	77
3. DISEÑO DEL PANEL DE GENES.....	78
4. PREPARACIÓN DE LA LIBRERÍA.....	80
5. SECUENCIACIÓN.....	82
6. ANÁLISIS DE DATOS.....	84
7. INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS.....	85
8. SECUENCIACIÓN SANGER.....	86
8.1. Análisis de variantes intrónicas profundas no incluidas en el panel.....	87
9. ANÁLISIS DE VARIANTES DE NÚMERO DE COPIAS.....	88
10. ESTUDIOS FUNCIONALES MEDIANTE MINIGENES.....	89
10.1. Diseño de los minigenes.....	89
10.2. Amplificación y purificación del fragmento genómico.....	89

10.3.	Doble digestión y purificación	90
10.4.	Ligación	90
10.5.	Transformación.....	91
10.6.	Selección de colonias	91
10.7.	Transfección en células HEK293	92
10.8.	Extracción del ARN, RT-PCR y amplificación del transcrito	92
10.9.	Interpretación de los ensayos con minigenes	93
IV.	RESULTADOS	95
1.	Validación del panel de genes	97
2.	Variantes genéticas	98
3.	Reclasificación de pacientes	101
4.	Correlación fenotipo-genotipo.....	103
4.1.	Variabilidad fenotípica intra e interfamiliar	103
4.2.	Pacientes con mutaciones en <i>RPGR</i>	105
4.3.	Pacientes con mutaciones en <i>ABCA4</i>	109
5.	Pacientes con diagnóstico genético incompleto.....	112
6.	Pacientes con mutaciones concomitantes	114
6.1.	Familia fRPN-NB	114
6.2.	Familia fRPN-142	118
6.3.	Familia fRPN-51	120
6.4.	Familia fRPN-219	122
6.5.	Familia RPN-194	124
6.6.	Familia fRPN-169	125
7.	Estudios funcionales mediante minigenes	127
7.1.	<i>ABCA4</i> : c.2972G>T, p.(Gly991Val).....	129
7.2.	<i>ABCA4</i> : c.6148G>C, p.(Val2050Leu).....	129
7.3.	<i>BEST1</i> : c.637_639del, p.(Glu213del).....	130
7.4.	<i>CACNA2D4</i> : c.2153-12_2155del, p.?	131
7.5.	<i>CNNM4</i> : c.2039C>T, p.(Ala680Val)	132
7.6.	<i>FSCN2</i> : c.1105G>A, p.(Gly369Ser)	132
7.7.	<i>IDH3B</i> : c.532A>G, p.(Ser178Gly)	133
7.8.	<i>MAK</i> : c.755A>G, p.(Asn252Ser)	134
7.9.	<i>MERTK</i> : c.1450G>A, p.(Gly484Ser)	134
7.10.	<i>PRPF31</i> : c.182C>G, p.(Ala61Gly)	135
7.11.	<i>RHO</i> : c.316G>A, p.(Gly106Arg).....	136
7.12.	<i>RIMS1</i> : c.2544+4A>G, p.?	137

7.13. <i>RPGRIP1</i> : c.930+3A>G, p.?	137
8. Pacientes no resueltos	139
V. DISCUSIÓN	141
1. Ratio diagnóstico y variantes genéticas	143
2. Reclasificación de pacientes	145
3. Correlación fenotipo-genotipo	146
3.1. Sobreexpresión de <i>ROM1</i>	146
3.2. Variabilidad fenotípica intrafamiliar	147
3.3. <i>RPGR</i>	147
3.4. <i>ABCA4</i>	149
4. Pacientes con diagnóstico genético incompleto	152
5. Pacientes con mutaciones concomitantes	153
5.1. Familia fRPN-NB	153
5.2. Familia fRPN-142	155
5.3. Familia fRPN-51	156
5.4. Familia fRPN-219	157
5.5. Familia RPN-194	158
5.6. Familia fRPN-169	159
6. Estudios funcionales mediante minigenes	160
6.1. Mutaciones con efecto deletéreo observado	160
6.2. Mutaciones sin efecto deletéreo observado	162
7. Pacientes no resueltos	165
8. perspectivas terapéuticas	166
VI. CONCLUSIONS	167
VII. BIBLIOGRAFÍA	171
VIII. ANEXOS	199
Anexo 1. Datos clínicos	201
Anexo 2. Cuestionario	213
Anexo 3. Consentimiento informado	214
Anexo 4. Cebadores	219
Anexo 5. Variantes identificadas	230
Anexo 6. Artículos publicados	253