

DISTROFIAS HEREDITARIAS DE RETINA EN ESPAÑA: TRES DÉCADAS DE ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO, CLÍNICO Y GENÉTICO

INHERITED RETINAL DYSTROPHIES IN SPAIN: THREE DECADES OF EPIDEMIOLOGICAL, CLINICAL, AND GENETIC STUDY

Irene Perea-Romero^{1,2*}; Lidia Fernández-Caballero^{1,2*}; Ionut F Iancu^{1,2}; Cristina Rodilla^{1,2}; Inmaculada Martín-Mérida^{1,2}; Almudena Avila-Fernández^{1,2}; Bertá Almoguera^{1,2}; Rosa Riveiro-Alvarez^{1,2}; María J Trujillo-Tiebas^{1,2}; Isabel Lorda-Sánchez^{1,2}; Saoud Tahsin-Swafiri^{1,2}; Fermína López-Grondona¹; Ana Isabel Sánchez¹; Fiona Blanco-Kelly^{1,2}; Marta del Pozo-Valero³; Pablo Mínguez^{1,2}; JM Millán^{2,4}; Pilar Martín-Gutiérrez⁵; Belén Jiménez-Rolando⁵; Ester Carreño⁵; Blanca García-Sandoval^{2,5}; Marta Cortón^{1,2}; Carmen Ayuso^{1,2}

1. Departamento de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, España
2. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
3. Centro de Genética Médica, Universidad de Gante, Hospital Universitario de Gante, Gante, Bélgica
4. Grupo de Investigación en Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS-La Fe), Valencia, España
5. Departamento de Oftalmología, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, España

* Ambas autoras contribuyeron igualmente a este trabajo.

Palabras clave:

Distrofias de Retina;
Medicina Molecular;
Genética Humana;
Heterogeneidad
Genética;
Epidemiología
Genética.

Keywords:

Retinal Dystrophies;
Molecular Medicine;
Human Genetics;
Genetic
Heterogeneity;
Genetic
Epidemiology.

Resumen

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) son un grupo de enfermedades raras con una prevalencia de 1:3000-4000 personas. Afectan principalmente a los fotorreceptores de la retina y a las células epiteliales pigmentarias, y conducen a la neurodegeneración y finalmente a la apoptosis.

En 2021, publicamos los resultados del Hospital Universitario-Fundación Jiménez Díaz (Madrid, España), desde 1991 hasta agosto de 2019. Hemos actualizado estos resultados hasta agosto de 2022 realizando un estudio transversal retrospectivo de base hospitalaria sobre 4.794 familias no emparentadas afectadas por DHR, procedentes de todas las comunidades autónomas.

Las familias se clasificaron en: a) "NO-RP": afectación predominante de conos, b) "RP" (retinosis pigmentaria): afectación primaria de bastones, y c) "DHR sindrómicas": afectación visual junto con síntomas extraoculares. Los estudios moleculares incluyen: paneles dirigidos, exoma clínico y secuenciación exómica o genómica completa.

Se caracterizaron genéticamente el 62% (2962/4794) de las familias, y se identificaron 1.997 variantes (5.064 alelos) en 188 genes. El fenotipo más común fue RP (59%, 2465/4794). En cuanto al tipo de alelos, encontramos un 51% de *missenses*, 44% truncantes (*nonsense*, *frameshift*, *indels* y *splicing*) y 2% variaciones en el número de copias. Los genes mutados más frecuentemente fueron *PRPH2*, *ABCA4* y *RS1* en familias autosómicas dominantes (AD), autosómicas recesivas (AR) y ligadas al cromosoma X (XL) para las familias NO-RP, respectivamente; *RHO*, *USH2A* y *RPGR* en AD, AR y XL para RP; y *MYO7A*, *USH2A* y *BBS1* en "DHR sindrómicas". Las variantes patogénicas más frecuentes fueron *ABCA4*: p.Arg1129Leu y *USH2A*: p.Cys759Phe.

Nuestro estudio actualiza el sustrato genético y las características de las DHR en España, informando de la mayor cohorte presentada hasta la fecha y de un elevado número de genes causales implicados. Además, nuestros hallazgos tienen importantes implicaciones para el diagnóstico y el consejo genético, pero también para posibles opciones terapéuticas.

Autor para la correspondencia

Carmen Ayuso

Departamento de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, España
Av. Reyes Católicos nº 2 · 28040 Madrid. Tlf.: ++34 609 612 728 | E-Mail: cayuso@fjd.es

DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA EN ESPAÑA

Perea-Romero I, et al.
An RANM. 2022;139(03): 274 - 284

Abstract

Inherited Retinal Dystrophies (IRDs) are a group of rare diseases with a prevalence of 1:3000-4000 people. They are genetic, primarily affecting retinal photoreceptors and epithelial pigmentary cells, and lead to neurodegeneration and finally apoptosis.

In 2021, we published our global results obtained in our registry at the Fundación Jiménez Díaz University Hospital (Madrid, Spain) from 1991 to August 2019. Now, we aimed to update these results until August 2022. Thus, we conducted a retrospective hospital-based cross-sectional study on 4.794 IRD-affected unrelated families from all the Spanish autonomous communities.

Families were classified into three phenotypic categories: a) "NON-RP" for cone-dominated phenotypes, b) "RP" (retinitis pigmentosa) for primary rod involvement, and c) "syndromic IRD" when visual plus extra-ocular symptoms are present. Molecular studies included: single-gene studies, clinical exome, whole exome or whole genome sequencing.

Overall, 62% (2962/4794) of the families were genetically characterized, in which 1.997 different likely causative variants (5.064 different alleles) were identified in 188 genes. The most common phenotype encountered was RP (59% of families, 2465/4794). Regarding the types of causative alleles, missenses were the most frequent (51%), followed by truncating (nonsense, frameshift, indels and splicing; 44%), while copy number variations were only 2%. The most recurrently mutated genes were *PRPH2*, *ABCA4* and *RS1* in autosomal dominant (AD), autosomal recessive (AR) and X-linked (XL) NON-RP families, respectively; *RHO*, *USH2A* and *RPGR* in AD, AR and XL for non-syndromic RP; and *MYO7A*, *USH2A* and *BBS1* in syndromic IRD. Pathogenic variants *ABCA4*:p.Arg1129Leu and *USH2A*:p.Cys759Phe were the most frequent.

Our study provides the overall genetic landscape for IRD in Spain, reporting the largest cohort ever presented and a high number of causal genes involved in these diseases. Furthermore, our findings have important implications for genetic diagnosis and counseling, but also for possible therapeutic management

INTRODUCCIÓN

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) son un conjunto de enfermedades raras (ER), producidas por la degeneración primaria de los fotorreceptores y/o el epitelio pigmentario de la retina (EPR), cursando con una gran heterogeneidad clínica y genética (1-3).

Cumplen los criterios de ER tanto por su prevalencia (1:3000-4000 personas) (4,5), como por sus características clínicas: crónicas, evolutivas y discapacitantes, pues conducen a baja visión y ceguera legal (2), con un gran impacto negativo en la calidad de vida y el ámbito emocional de personas afectadas y familiares (6).

Por sus manifestaciones oculares, las DHR pueden afectar principalmente a la retina periférica (p.ej.: retinosis pigmentaria (RP) o coroideremia), central o a ambas. En el caso de las retinopatías periférica, se afectan predominante los bastones, con ceguera nocturna, disminución del campo visual periférico y, finalmente, de la agudeza visual (7). Una forma periférica muy precoz es la Amaurosis Congénita de Leber (LCA) (8), caracterizada por nistagmo y una baja agudeza visual que es precoz y rápidamente progresiva. En las retinopatías centrales (p.ej.: distrofia de conos, acromatopsia o monocromatismo de conos azules) se afectan primariamente los conos, con fotofobia, alteración en la visión cromática y baja agudeza visual (9). De modo similar, en las distrofias maculares hereditarias (DM), se observa pérdida de visión central bilateral, acompañándose a menudo

de atrofia macular y del EPR subyacente (p.ej.: enfermedad de Stargardt (STGD1, MIM#248200), distrofia macular viteliforme de Best (VMD2, MIM#153700). En casos de afectación mixta, como ocurre en la distrofia de conos y bastones (DCB) generalmente se produce en primer lugar la afectación central progresando a la periferia (9).

El 15%-20% de las DHR se asocian a patologías sistémicas (DHR sindrómicas) (2,7), con mayor discapacidad por la presencia de hipoacusia, discapacidad intelectual, malformación o neurodegeneración del sistema nervioso, alteraciones esqueléticas y/o trastornos endocrinológicos. La mortalidad de estas formas se incrementa como consecuencia de alteraciones metabólicas graves, malformaciones renales o cardiopatía (10,11).

El Síndrome de Usher es la forma sindrómica más frecuente con hipoacusia de moderada a profunda y, en algunos casos, alteración vestibular según los diferentes tipos clínicos tipo I (USH1, MIM#276900), tipo II (USH2, MIM#276901) y tipo III (USH3, MIM#276902). Otros síndromes frecuentes son el de Bardet-Biedl (BBS, MIM#209900) y Alström (ALMS, MIM#203800) (10,11).

Las DHR son muy heterogéneas genéticamente, con todos los patrones hereditarios mendelianos (herencia autosómica dominante, autosómica recesiva y ligada al X) y no mendelianos (mitocondrial, oligogénica, etc) descritos, así como más de 300 *loci*/genes asociados (<https://web.sph.uth.edu/RetNet/sum-dis.htm>, agosto

2022). Estos genes codifican proteínas implicadas en el desarrollo retiniano, mantenimiento de la estructura de los fotorreceptores, fototransducción y ciclo visual, procesos de fagocitosis, transporte nuclear, transcripción génica y *splicing*, entre otras funciones (2,3,12).

Gracias a las técnicas de secuenciación masiva (NGS, *next-generation sequencing*), en sus distintas aplicaciones de paneles dirigidos, exoma clínico (CES, *clinical exome sequencing*), exoma completo (WES, *whole-exome sequencing*) o genoma completo (WGS, *whole-genome sequencing*), la tasa de diagnóstico genético se ha incrementado significativamente, alcanzando valores del 50%-60% (12-17). El diagnóstico genético permite realizar diagnósticos diferenciales, así como un correcto asesoramiento familiar y, en algunos casos, establecer pronósticos. Además, ciertos casos ya pueden beneficiarse de tratamientos disponibles o futuros, o participar en ensayos clínicos.

El consorcio internacional para la investigación en ER (IRDiRC, <https://irdirc.org/>) tiene tres objetivos a alcanzar en 2027: i) acelerar un diagnóstico de calidad, ii) obtener tratamientos para un mayor número de ER y iii) evaluar el impacto que estas medidas tendrán en las vidas de pacientes/familias.

Hace tres décadas constituimos un grupo multidisciplinar orientado a la investigación traslacional de las DHR, denominado EsRetNet (Estudio Español de Retinosis Pigmentaria 1991-2006, <https://www.esretnet.org/#>). Este grupo ha trabajado en estrecha colaboración con investigadores españoles del CIBERER (Centro de investigación Biomédica en Red sobre ER, ISCIII <https://www.ciberer.es/>) y Raregenomics (Red de Investigación en Enfermedades Raras de la Comunidad de Madrid, <https://www.rare-genomics.com/>) e internacionales (ERDC, *European Retinal Disease Consortium*), adoptando similares objetivos a los de IRDiRC.

En concreto, nuestro objetivo fue la caracterización clínica y molecular de los pacientes con DHR en España, visibilizar sus necesidades y acercarlos al diagnóstico y tratamiento.

En 2021, publicamos los resultados globales del estudio epidemiológico y genético en una gran cohorte de pacientes con DHR reunidos en un solo centro a lo largo del periodo 1991-2019 (18). En este artículo, realizamos una actualización de esos resultados en un corte transversal realizado en agosto de 2022.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción de la cohorte

Se realizó un análisis retrospectivo de los pacientes con DHR de nuestro registro en el Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz (FJD, Madrid, España) desde 1991 hasta agosto de 2022, incluyendo todos

los pacientes derivados al Servicio de Genética para diagnóstico genético por sospecha clínica de DHR.

Para el presente estudio, se han considerado los casos índices de cada familia incluida en el registro, excluyéndose aquellas sin análisis genético.

La cohorte completa contiene 4.794 casos índice de familias no relacionadas afectadas por DHR en nuestro registro, tras excluir aquellas sin análisis genético.

Este estudio fue realizado siguiendo todos los principios de la Declaración de Helsinki y posteriores revisiones, tras su aprobación por el Comité de Ética de la FJD (nº aprobación 134/2016_FJD) y la obtención de consentimiento informado escrito de todos los pacientes o de sus tutores legales.

Estudios clínicos

El examen clínico siguió criterios previamente descritos (18-20), e incluyó exámenes oftalmológicos, exploración física general y otras pruebas complementarias, así como datos de salud autoinformados.

Se revisaron los antecedentes clínicos y familiares a través de informes clínicos, un cuestionario específicamente diseñado para DHR y/o historia clínica electrónica de cada participante.

Clasificación clínica

La clasificación clínica inicial (diagnóstico "*a priori*") o diagnóstico clínico-oftalmológico de presunción fue recogido en el momento de la solicitud del estudio genético, previo a los resultados. Está basado en los informes y datos clínicos remitidos en dicho momento.

De acuerdo con esos datos, y siguiendo criterios internacionales, las familias se clasificaron en 3 categorías de fenotipos, descritas previamente (7,18-22):

"NO-RP": fenotipo con afectación predominante de conos: distrofia de conos, DCB, acromatopsia y monocromatismo de conos azules.

"RP": fenotipo con afectación primaria de bastones: RP, LCA y coroideremia.

"DHR Síndromicas": cuando existen síntomas extraoculares.

Clasificación de fenotipos síndromicos

Los fenotipos síndromicos se clasificaron de acuerdo con los datos clínicos "*a priori*", siguiendo criterios establecidos anteriormente por nuestro grupo (11,20). Para la categorización de los principales síntomas extraoculares se usaron términos de la ontología HPO (*Human Phenotype Ontology*) (23) y para las definiciones de los síndromes conocidos se utilizaron los criterios internacionales.

Clasificación del patrón hereditario

El patrón hereditario “*a priori*” se asignó en base al árbol genealógico, siguiendo criterios previamente publicados (24), dividiéndose en: autosómico dominante (AD), autosómico recesivo (AR), ligado al X (XL), esporádico (ES) y sin clasificar.

Estudio Molecular

A lo largo de los 32 años, se fueron aplicando diferentes abordajes de análisis moleculares, según la disponibilidad de la tecnología, como se ha publicado previamente (18).

A partir de 2013 (25) se incluyó la secuenciación masiva (NGS), inicialmente en el ámbito de la investigación, y en 2015 de modo rutinario el exoma clínico (CES) y, en casos seleccionados, la secuenciación exómica (WES) o genómica (WGS) completa.

Asimismo, se aplicaron distintos algoritmos bioinformáticos de análisis y reanálisis, para la anotación y priorización de las variantes genéticas (18,26,27).

Clasificación de las variantes y los genotipos

Las variantes genéticas se clasificaron según las guías internacionales del *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (28) en 5 categorías: patogénicas, probablemente patogénicas, variantes de significado incierto (VUS), probablemente benignas y benignas.

A efectos de la caracterización genética de las familias, únicamente se consideraron las variantes patogénicas y probablemente patogénicas (clases 5 y 4).

Asimismo, en el presente trabajo únicamente se consideran como caracterizados aquellos casos con genotipos causales completamente identificados, no incluyéndose los casos con variantes monoalélicas para genes AR.

RESULTADOS

Clasificación clínica y de patrón hereditario

Las 4.794 familias DHR con estudios genéticos disponibles se clasificaron en tres categorías: “RP” (51% de las familias), “NO-RP” (36%) y formas sindrómicas (13%) (Figura 1A).

El 58% y 56% de las DHR no sindrómicas (“NO-RP” y “RP”) eran casos esporádicos (43% y 53%, respectivamente) o sin clasificar (15% y 3%, respectivamente). Entre los casos familiares, la herencia AR fue la más común, afectando al 16% (“NO-RP”) y 24% (“RP”) de las familias, seguida de las herencias AD y XL.

La herencia AR fue también la más común en las “DHR sindrómicas”, siendo el síndrome de Usher la forma sindrómica más prevalente (68%), representando el Usher tipo 2 el 45% del total de “DHR sindrómica” (Figura 1B).

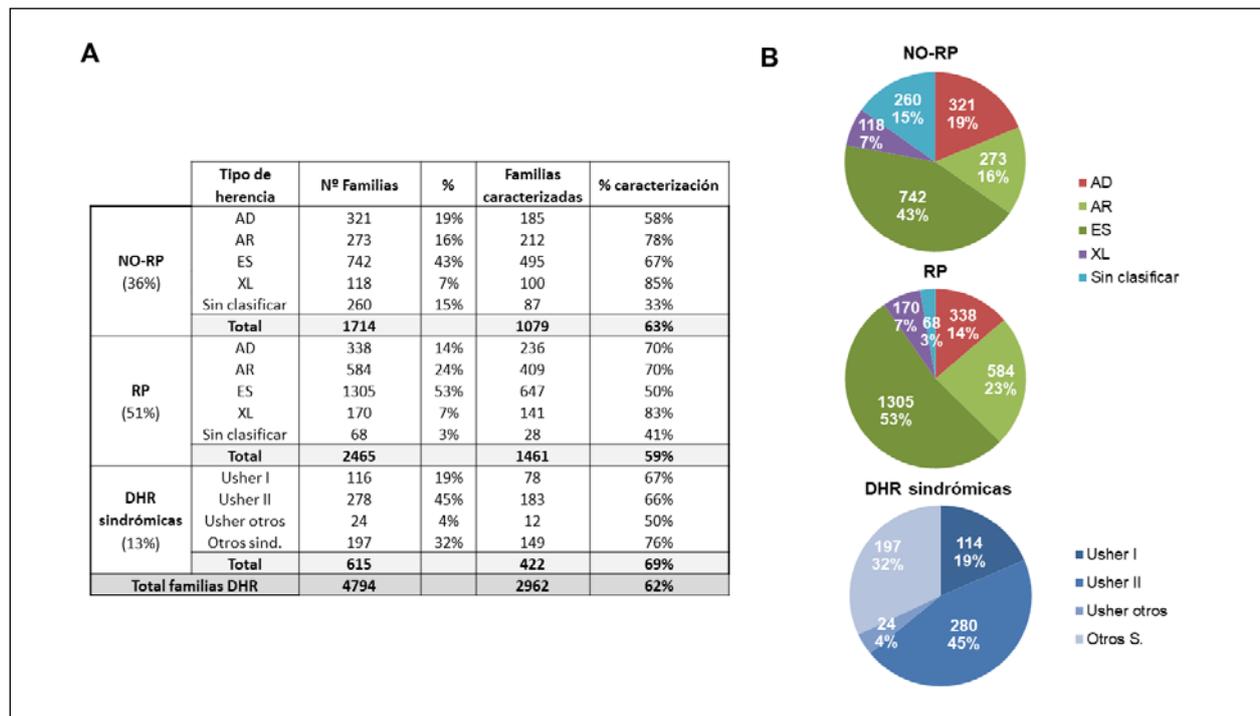


Figura 1. (A) Clasificación clínica y hereditaria según diagnóstico “*a priori*” y caracterización molecular. (B) Clasificación de las familias con distrofias hereditarias de la retina en “NO-RP” y “RP”, según el modo de herencia, y sindrómicas, según el tipo de síndrome. AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesiva; DHR: distrofias hereditarias de la retina; ES: esporádica; XL: ligada al X.

Resultados de los estudios genéticos

Tasa diagnóstica y genes implicados

La tasa diagnóstica global fue del 62% (2962/4794 familias), y del 63%, 59% y 69% en los tipos “NO-RP”, “RP” y sindrómico, respectivamente (Figura 1).

Tras la caracterización molecular, se reclasificaron los 495 y 647 casos esporádicos, y 87 y 28 familias sin clasificar (“NO-RP” y “RP”, respectivamente).

Adicionalmente, se clasificaron correctamente el 4% (108/2540) de las familias “NO-RP” y “RP” (Figura 2A). Se comparó la herencia “a priori” basada en el árbol genealógico y la herencia final derivada del diagnóstico molecular (Figura 2B), obteniéndose que la mayoría de los casos esporádicos (495 “NO-RP” + 647 “RP”) tenían herencia AR después de las pruebas genéticas (“NO-RP”: 460/495, 93%; “RP”: 540/647, 84%).

Los casos esporádicos restantes se reclasificaron a AD (n=88) y XL (n=54), mientras 115 casos con modo de herencia desconocido inicialmente (87 “NO-RP” y 28 “RP”) se clasificaron como: AD (n=23), AR (n=81) y XL (n=11) tras los estudios.

En total se identificaron 188 genes y 1997 variantes distintas (5.064 alelos totales), causantes de DHR en las 2.962 familias diagnosticadas genéticamente (Figura 3).

Aunque el número de genes implicados es elevado, solo 21 de ellos afectan a 30 o más familias (1%), mientras que los 167 restantes solo afectan a una (n=67) o a un número muy limitado de familias (Figura 3).

Los siete genes más frecuentemente implicados afectaron al 52% de las familias caracterizadas (*ABCA4* (22%); *USH2A* (12%); *CRB1* (4%); *PRPH2* (4%); *RS1* (4%); *RPGR* (3%) y *RHO* (3%)). Los tres primeros presentan mutaciones bialélicas y herencia AR; *PRPH2* y *RHO* mutaciones en heterocigosis y una herencia AD; y *RPGR* una herencia XL.

En cuanto a la distribución de los genes causales por categorías clínicas (Figura 4A), en las formas “NO-RP” (63% de caracterización) se identificaron 73 genes. El gen *ABCA4*, responsable del 52% de las familias, junto con *RS1*, *PRPH2* y *BEST1*, explican las tres cuartas partes de los casos índice “NO-RP” en España (Figura 4A-I). Por subtipos hereditarios, los genes más frecuentes fueron *PRPH2*, *ABCA4* y *RS1*, para AD, AR y XL, respectivamente.

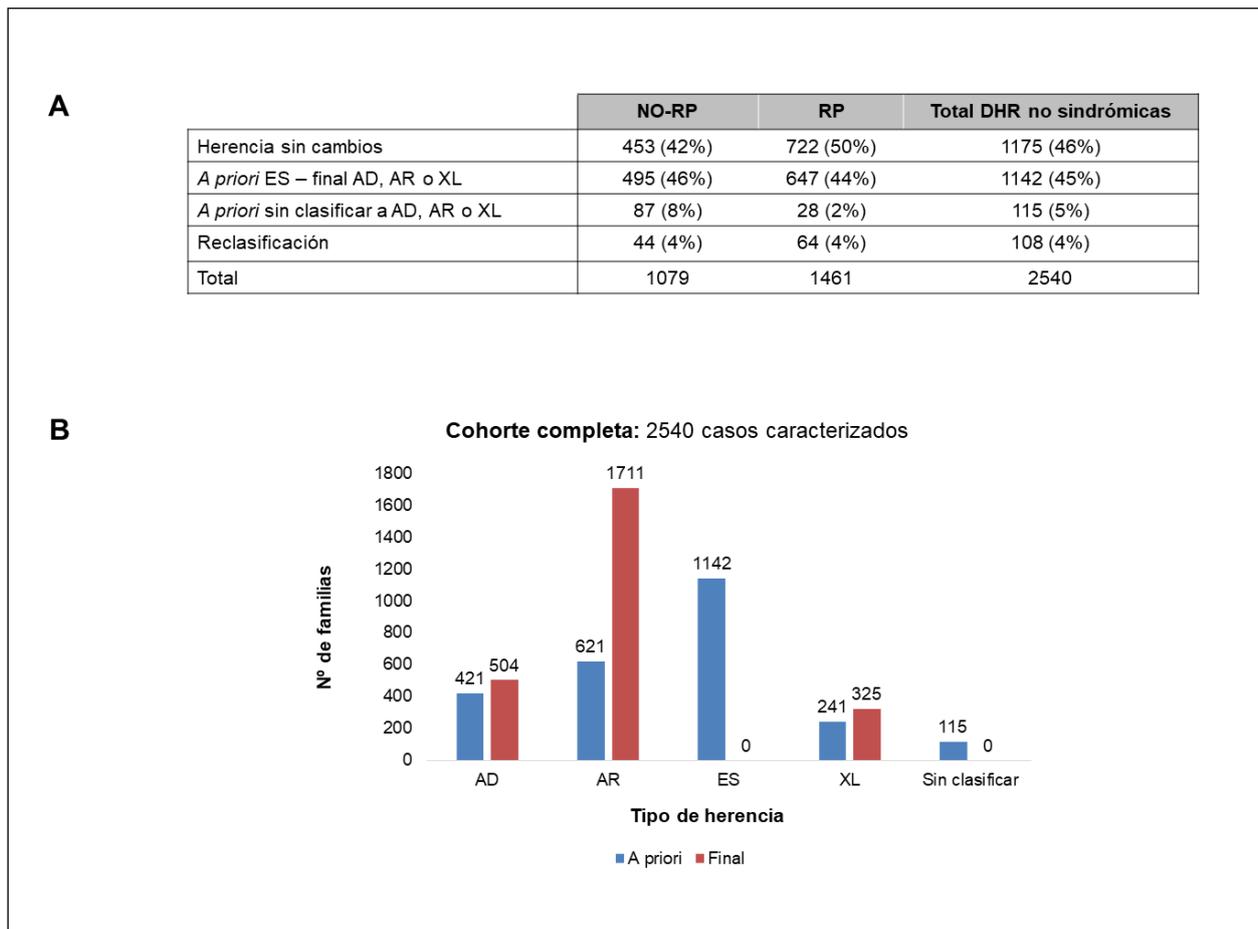


Figura 2. Reclasificación genética. (A) Comparación de la clasificación de la herencia antes (azul) y después (rojo) de realizar el estudio molecular. (B) Tabla comparativa del patrón de herencia “a priori” vs final y reclasificación.

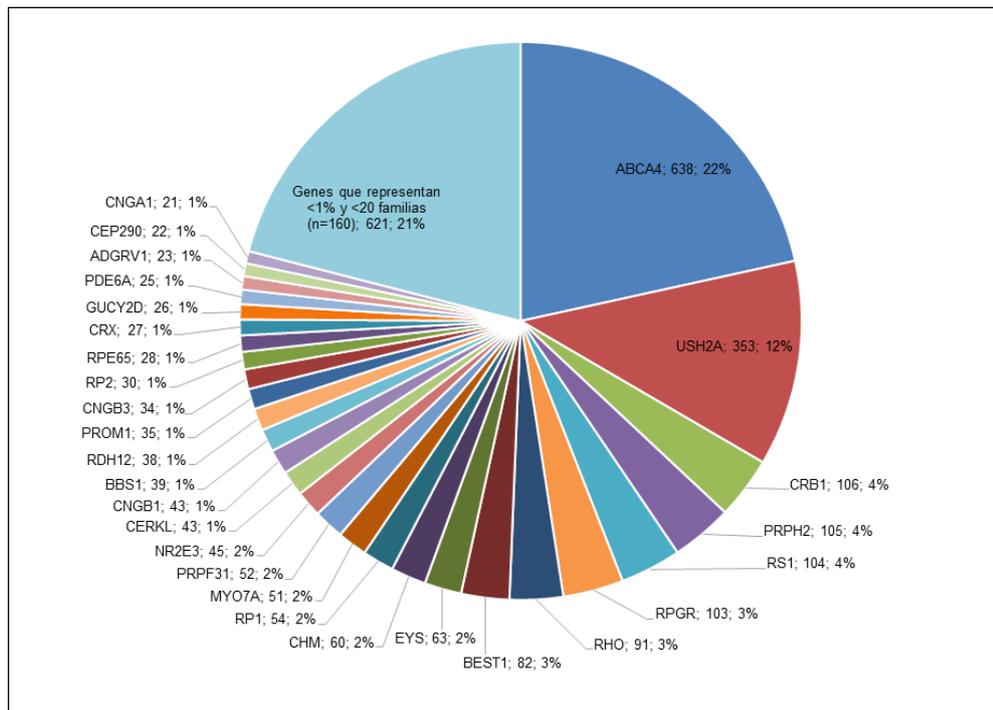


Figura 3. Distribución de los 188 genes implicados en las 2.962 familias DHR caracterizadas.

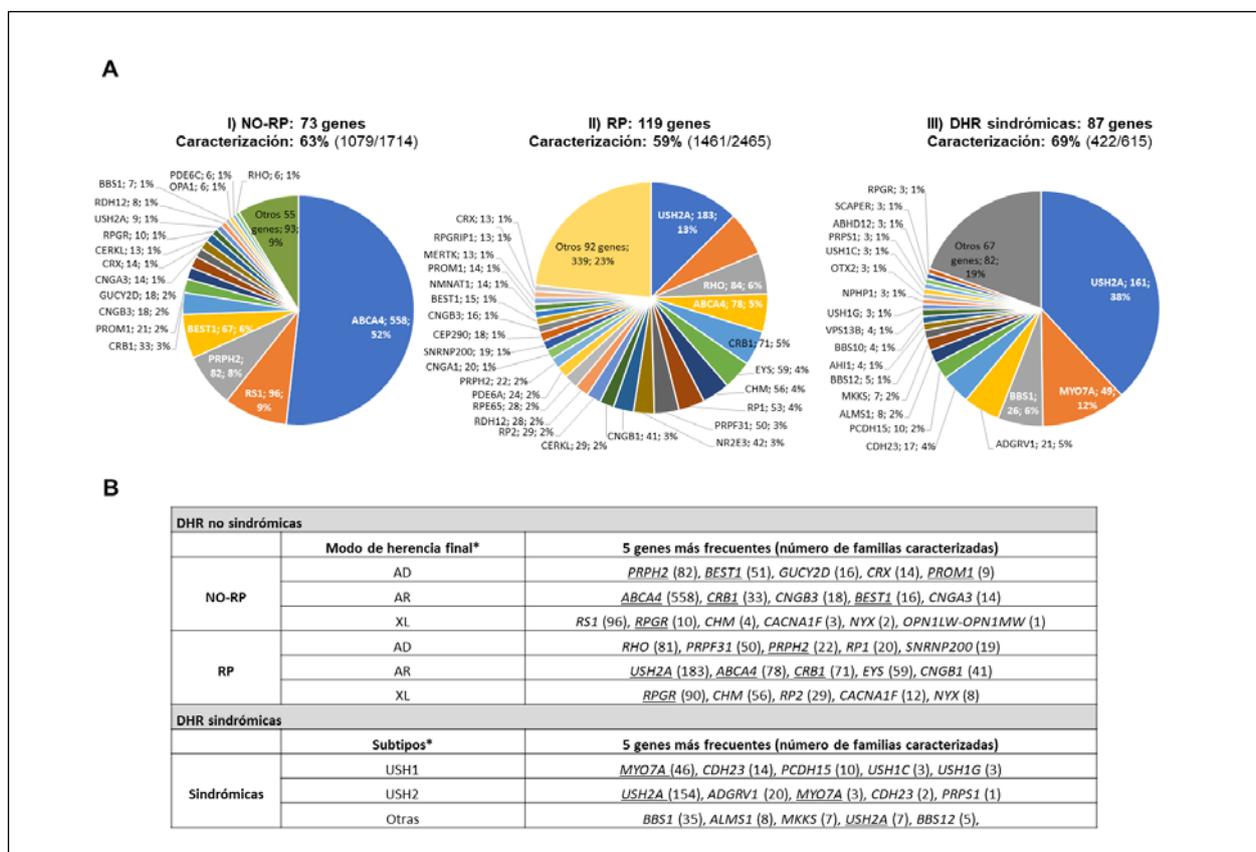


Figura 4. (A) Distribución de los genes causales por categorías clínicas: I) "NO-RP"; II) "RP" y III) "DHR sindrómica". (B) Resumen de los genes causales encontrados más frecuentemente en cada subgrupo clínico y hereditario del estudio. AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesivo; USH1: síndrome de Usher tipo 1; USH2: síndrome de Usher tipo 2; XL: ligado al cromosoma X. *Se indica la herencia y/o subtipo clínico finalmente considerado, tras los resultados genéticos. Se indican subrayados aquellos genes que están presentes en más de un modelo hereditario y/o una categoría clínica. Entre paréntesis se indica el número de casos.

El grupo con la mayor heterogeneidad genética fue “RP”, con 119 genes causales, con 4 genes (*USH2A*, *RPGR*, *RHO* y *ABCA4*) afectando al 30% de las familias (Figura 4A-II). Por subtipos hereditarios, son *RHO*, *USH2A* y *RPGR* los más prevalentes en las familias AD, AR y XL, respectivamente.

En las formas sindrómicas, se identificaron 87 genes implicados, siendo los más frecuentes *MYO7A*, *USH2A* y *BBS1*, en el 56% de las familias “DHR sindrómicas” caracterizadas, los cuales son causantes de los síndromes de Usher de tipo 1, de tipo 2 y del síndrome de Bardet-Biedl, respectivamente (Figura 4A-III).

En cada subgrupo de la cohorte (pacientes “NO-RP” y “RP” divididos por modo de herencia) se observan algunos genes muy prevalentes (Figura 4B).

Algunos aparecen representados en más de una categoría, por transmitirse con dos posibles patrones de herencia (i.e.: *PROM1*, *RPI*: (AD y AR)), o por asociarse a distintos posibles fenotipos (*USH2A*: RP no sindrómica o síndrome de Usher tipo 2; *PRPH2*, *RPGR*: RP y NO-RP) (Figura 4B).

Mutaciones asociadas a DHR frecuentes en población española

Se ha observado una alta heterogeneidad genética en las DHR en nuestro país, con 5.064 variantes patogénicas causales observadas. Estas fueron mayoritariamente *missense* (51%), seguidas por las truncantes (*nonsense*, *frameshift*, *indels* y de *splicing*) (44%) y variaciones en el número de copias (CNV) (2%) (Figura 5A).

La Figura 5B muestra las 8 variantes más frecuentemente observadas en este estudio.

La más prevalente, *ABCA4*: p.Arg1129Leu (4,3% de alelos patogénicos identificados), afecta al 17,1% de las familias “NO-RP” caracterizadas. Se encuentra casi exclusivamente en pacientes españoles “NO-RP”, siendo con alta probabilidad una mutación fundadora española (29). La segunda variante más frecuente, *USH2A*: p.Cys759Phe (3,5% de los alelos) está presente en el 7,9% de las familias “RP”, además de en el 7,8% de las familias sindrómicas caracterizadas. Esta variante no es exclusiva de la población española y ha sido descrita también en otras poblaciones, siendo frecuente en Europa (30).

DISCUSIÓN

En los últimos años, se han publicado estudios de caracterización genética de DHR en distintas poblaciones (13–17,31–36), siendo el presente uno de los más grandes realizados (Tabla 1).

La eficacia diagnóstica en DHR varía en las distintas poblaciones (13–17,31–36), entre 37% (17) y 72% (32). Esta variabilidad es debida a distintos factores, como: las técnicas de estudio, obteniéndose mayor diagnóstico cuando se utilizan rutinariamente la NGS con análisis y reanálisis bioinformáticos, y con abordajes que incluyan un mayor número de genes o de regiones del genoma, como la WES, que incluye todas las regiones codificantes de todos los genes humanos, o la WGS, que incluye tanto regiones codificantes como no codificantes. Por otra parte, los métodos bioinformáticos que permiten analizar y anotar CNVs aportan una mayor tasa diagnóstica, que aquellos que solo anotan las variaciones de único nucleótido (SNV) y otras variantes como las pequeñas inserciones/delecciones.

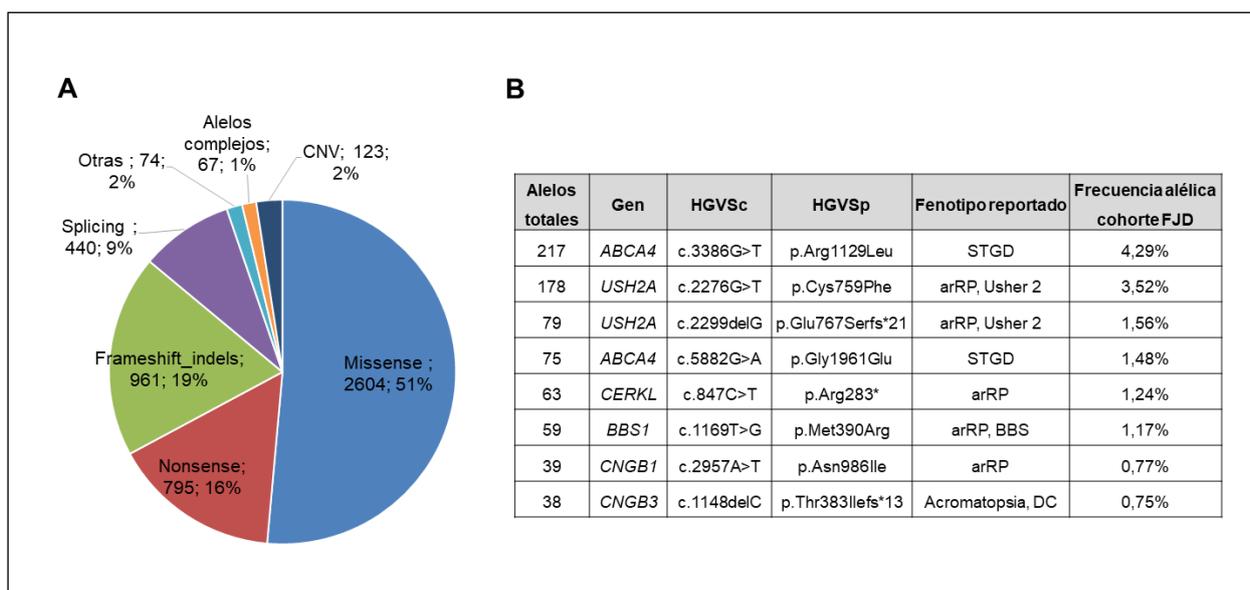


Figura 5. (A) Distribución de los alelos totales (n=5064) encontrados en la cohorte según el tipo de variante. (B) Variantes patogénicas más frecuentes en nuestra cohorte. arRP: retinosis pigmentaria autosómica recesiva; BBS: síndrome de Bardet-Biedl; DC: distrofia de conos; STGD: enfermedad de Stargardt.

Tabla 1. Análisis comparativo de los estudios de caracterización molecular de DHR de otros países. CES: Secuenciación del Exoma Clínico; CRD: distrofia de conos/bastones; DHR: distrofonías hereditarias retinianas; DM: distrofia macular; LCA: amaurosis congénita de Leber; MLPA: amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple; NGS: secuenciación masiva; RP: retinosis pigmentaria; esRP: retinosis pigmentaria esporádica; STGD: enfermedad de Stargardt; USH: síndrome de Usher; WES: Secuenciación del Exoma Completo; WGS: Secuenciación del Genoma Completo.

Autores [PMID]	Año	País	No. de casos (No. de familias)	Categorías clínicas	Genes cribados	% caracterización	No. de genes afectados	Técnica de NGS (otras)
Maeda <i>et al.</i> [29785639]	2018	Japón	94 casos índice	DCB, RP, USH, STGD	39	48% (45/94)	19	Panel personalizado
Huang <i>et al.</i> [25356976]	2014	China	179 familias	DHR	252	55% (99/179)	35	Panel personalizado
Sharon <i>et al.</i> [31456290]	2019	Israel	3.413 casos (2.420 familias)	DHR	No reportado	56% (1.369/2.420)	129	Varias
Goetz <i>et al.</i> [32893963]	2020	USA y Canadá	6.403 casos (5.385 familias)	DHR, otras enf oculares	>200	62% (3.448/5.552)	No reportado	Varias
Motta <i>et al.</i> [30374144]	2018	Brasil	1.246 pacientes (1.159 familias)	DHR	No reportado	72% (400/559)	66	Panel, WES (aCGH, arrays genotipado, Sanger)
Bravo-Gil <i>et al.</i> [28157192]	2017	España	106 casos	esRP	68	62% (66/106)	26	Panel personalizado
Tiwari <i>et al.</i> [27353947]	2016	Suiza	58 pacientes	DHR	No reportado	64% (37/58)	18	WES
Birtel <i>et al.</i> [29555955]	2018	Alemania	251 pacientes	DCB, DM	No reportado	74% (185/251)	22	Panel personalizado (Sanger, MLPA)
Weisschuh <i>et al.</i> [32531858]	2020	Alemania	1.785 familias	DHR	112	71% (1528/1785)	128-379	Panel personalizado
Pontikos <i>et al.</i> [32423767]	2020	Reino Unido	4.236 pacientes (3.195 familias)	DHR	No reportado	N/A	135	Panel, WES, WGS (Gen único)
Whelan <i>et al.</i> [31963381]	2020	Irlanda	>1000 pacientes (710 familias)	DHR	No reportado	70% (495/710)	210-254	Panel personalizado
Colombo <i>et al.</i> [33576794]	2021	Italia	591 familias	RP no sindrómica, USH	267	37% (221/591)	52	Panel personalizado, CES
Presente estudio	-	España	4.794 familias	DHR	188	62% (2.962/4.794)	188	Varias

En segundo lugar, dado que hay fenotipos clínicos con poca heterogeneidad genética (STGD, retinosquiasis o coroideremia), la diferente composición de las cohortes en subtipos clínicos determina también la tasa diagnóstica (35).

Por otra parte, actualmente, se conocen unos 280 genes y 316 *loci* responsables de DHR (RetNet); lo que la convierte en una de las patologías mendelianas con mayor heterogeneidad descrita (5,36). Por ello, también el fondo genético puede contribuir a un mayor éxito en la tasa de genotipado en algunas poblaciones, bien por una baja variabilidad, por efecto cuello de botella (37), como ocurre en Reino Unido e Irlanda u otras regiones geográficamente aisladas, acumulándose ciertas mutaciones (16,36), o por tasas elevadas de consanguinidad (14).

Dada la elevada variabilidad genética, en España es necesario estudiar un alto número de genes para obtener tasas de diagnóstico comparables con las de otras poblaciones.

Así, en nuestro estudio se detectaron 188 genes, el número más elevado de las series consultadas (13–17,31–36) (Tabla 4), que reportan entre 18 (34) y 135 (16) genes que explican hasta el 74% de las familias estudiadas.

En un estudio reciente que describe el análisis de 185 genes causantes de DHR en 6 poblaciones distintas (5), se pone de manifiesto que hay tres genes (*ABCA4*, *USH2A* y *EYS*), cuyas mutaciones son muy frecuentes en al menos cinco de las seis subpoblaciones estudiadas. En nuestro estudio, los genes más mutados son también *ABCA4* y *USH2A*, en el 22% y 12%, respectivamente de las familias afectadas (Figura 3), sin embargo, *EYS* solo explica el 2%.

Finalmente, la estructura genética de las distintas poblaciones se refleja en la existencia de mutaciones altamente prevalentes o exclusivas de población. Así Weisschuh et al. (35); reportan la variante p.Arg45Trp en *RP111* como muy prevalente en Alemania, mientras que Whelan L. et al. (36) reportan como frecuente en Irlanda la variante c.4539+2028C>T en *ABCA4*. En nuestra cohorte, la variante p.Arg1129Leu en *ABCA4* es la más prevalente (4,3% de los alelos encontrados) y parece ser exclusiva de población española, pues no aparece en otras series (38).

Un problema que urge abordar es identificar la causa genética en las familias sin caracterizar. Para ello es necesario aplicar herramientas recientemente desarrolladas como los nuevos algoritmos bioinformáticos junto con el abordaje mediante WGS de secuencias largas y cortas y otros estudios que permitan identificar reordenamientos genómicos y CNVs, así como acceder a regiones no bien caracterizadas: secuencias no codificantes (regiones reguladoras o intrónicas profundas), de secuencia repetida, o regiones intergénicas. Esta aproximación podría ayudar a revelar el componente genético oculto en los casos restantes. Por otra parte, estudios funcionales y análisis sobre las isoformas de los genes implicados en DHR que se expresan en la

retina humana podrían arrojar luz sobre el papel de ciertas variantes genéticas en la etiopatogenia de la enfermedad.

Una consecuencia de la caracterización de los distintos subtipos de nuestra cohorte ha sido el genotipado en profundidad, facilitando estudios de correlación genotipo-fenotipo, y la eventual selección de subcohortes para posibles ensayos terapéuticos o tratamientos. Este abordaje se ha realizado exitosamente para la caracterización genética detallada de casos esporádicos (22), para la correlación clínica de DM y STGD (39), *RPE65* (40), casos sindrómicos no Usher (11,20) y los tipos 1 y 2 del Síndrome de Usher (19), entre otros subgrupos.

En el caso particular de *RPE65* estos estudios han permitido identificar los casos susceptibles de tratamiento rápidamente.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados describen las características genéticas de los pacientes españoles con DHR, una de las series más grandes publicadas hasta ahora, indicando la gran heterogeneidad genética de esta enfermedad en una población, con elevado número de genes causantes implicados en la enfermedad.

La identificación de la causa genética en estos casos representó un paso clave para los pacientes. En primer lugar, permitió confirmar o reclasificar el subtipo clínico y hereditario, facilitando su asesoramiento genético, al determinar el riesgo en otros familiares y favorecer su prevención. En segundo lugar, es la condición necesaria para optar a terapias gen-dirigidas, bien ya autorizadas como la disponible para *RPE65*, o bien en el marco de ensayos clínicos.

En conclusión, este estudio actualiza el sustrato genético y las características de las DHR en España y ayudará a diseñar abordajes clínicos y asistenciales preventivos de este trastorno en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

Instituto de Salud Carlos III (PI16/00425, PI19/00321, PI19/00303, FI17/00192), CIBERER (06/07/0036), Biobanco IIS-FJD (PT13/0010/0012), Comunidad de Madrid (B2017/BMD-3721), FEDER, ONCE, Cátedra UAM-IIS-FJD de Medicina Genómica, Fundación Ramón Areces y Fundación Conchita Rábago, Proyecto UshTher (Programa Horizonte 2020 de la Unión Europea, N° 754848).

Los autores agradecen a los restantes autores que aparecen mencionados en el manuscrito Perea-Romero et al., 2021 (PMID: 33972629) Rosario López-Rodríguez, Lucía Pérez de Ayala, Elvira Rodríguez-Pinilla, y a los pertenecientes a los grupos

colaborativos “The ESRETNET Study Group”, “The ERDC Study Group”, “The Associated Clinical Study Group”, y a los pacientes que participaron en este estudio.

DECLARACIÓN DE TRANSPARENCIA

Los autores/as de este artículo declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses respecto a lo expuesto en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wright AF, Chakarova CF, Abd El-Aziz MM, Bhattacharya SS. Photoreceptor degeneration: genetic and mechanistic dissection of a complex trait. *Nat Rev Genet.* 2010;11(4): 273-284.
2. Ayuso C, Millán JM. Retinitis pigmentosa and allied conditions today: a paradigm of translational research. *Genome Med.* 2010; 2(5) :34.
3. Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *Lancet.* 2006; 368(9549): 1795-1809.
4. Vaidya P. Retinitis pigmentosa: Disease encumbrance in the Eurozone. *Int J Ophthalmol Clin Res [Internet].* 2015; 2(4). Disponible en: <https://clinmedjournals.org/articles/ijocr/ijocr-2-030.php?jid=ijocr>
5. Hanany M, Rivolta C, Sharon D. Worldwide carrier frequency and genetic prevalence of autosomal recessive inherited retinal diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117(5): 2710-2716.
6. Cross N, van Steen C, Zegaoui Y, Satherley A, Angelillo L. Retinitis pigmentosa: Burden of disease and current unmet needs. *Clin Ophthalmol.* 2022; 16: 1993-2010.
7. Verbakel SK, van Huet RAC, Boon CJF et al. Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 66: 157-186.
8. Kumaran N, Moore AT, Weleber RG, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: Clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101(9): 1147-1154.
9. Gill JS, Georgiou M, Kalitzeos A, Moore AT, Michaelides M. Progressive cone and cone-rod dystrophies: Clinical features, molecular genetics and prospects for therapy. *Br J Ophthalmol.* 2019; 103(5): 711-720. doi: 10.1136/bjophthalmol-2018-313278.
10. Millán JM, Aller E, Jaijo T, Blanco-Kelly F, Gimenez-Pardo A, Ayuso C. An update on the genetics of usher syndrome. *J Ophthalmol.* 2011; 2011: 417217.
11. Perea-Romero I, Blanco-Kelly F, Sánchez-Navarro I et al. NGS and phenotypic ontology-based approaches increase the diagnostic yield in syndromic retinal diseases. *Hum Genet.* 2021; 140(12): 1665-1678.
12. Farrar GJ, Carrigan M, Dockery A et al. Toward an elucidation of the molecular genetics of inherited retinal degenerations. *Hum Mol Genet.* 2017; 26(R1): R2-11.
13. Huang XF, Huang F, Wu KC et al. Genotype-phenotype correlation and mutation spectrum in a large cohort of patients with inherited retinal dystrophy revealed by next-generation sequencing. *Genet Med.* 2015; 17(4): 271-278.
14. Sharon D, Ben-Yosef T, Goldenberg-Cohen N et al. A nationwide genetic analysis of inherited retinal diseases in Israel as assessed by the Israeli inherited retinal disease consortium (IIRDC). *Hum Mutat.* 2020; 41(1): 140-149.
15. Goetz KE, Reeves MJ, Gagadam S et al. Genetic testing for inherited eye conditions in over 6,000 individuals through the eyeGENE network. *Am J Med Genet.* 2020; 184(3): 828-837.
16. Pontikos N, Arno G, Jurkute N et al. Genetic basis of inherited retinal disease in a molecularly characterized cohort of more than 3000 families from the United Kingdom. *Ophthalmology.* 2020; 127(10): 1384-1394.
17. Colombo L, Maltese PE, Castori M et al. Molecular epidemiology in 591 Italian probands with nonsyndromic retinitis pigmentosa and usher syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021;62(2):13.
18. Perea-Romero I, Gordo G, Iancu IF et al. Genetic landscape of 6089 inherited retinal dystrophies affected cases in Spain and their therapeutic and extended epidemiological implications. *Sci Rep.* 2021; 11(1):1526.
19. Blanco-Kelly F, Jaijo T, Aller E et al. Clinical aspects of Usher syndrome and the USH2A gene in a cohort of 433 patients. *JAMA Ophthalmol.* 2015; 133(2): 157-164.
20. Sánchez-Navarro I, R J da Silva L, Blanco-Kelly F et al. Combining targeted panel-based resequencing and copy-number variation analysis for the diagnosis of inherited syndromic retinopathies and associated ciliopathies. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 5285.
21. Riveiro-Alvarez R, López-Martínez MA, Zernant J et al. Outcome of ABCA4 disease-associated alleles in autosomal recessive retinal dystrophies: Retrospective analysis in 420 Spanish families. *Ophthalmology.* 2013; 120(11): 2332-2337.
22. Martín-Mérida I, Avila-Fernández A, Del Pozo-Valero M et al. Genomic landscape of sporadic retinitis pigmentosa: Findings from 877 Spanish cases. *Ophthalmology.* 2019; 126(8): 1181-1188.
23. Köhler S, Schulz MH, Krawitz P et al. Clinical diagnostics in human genetics with semantic similarity searches in ontologies. *Am J Hum Genet.* 2009; 85(4): 457-464.
24. Ayuso C, García-Sandoval B, Najera C, Valverde D, Carballo M, Antiñolo G. Retinitis pigmentosa in Spain. The Spanish Multicentric and Multidisciplinary Group for Research into Retinitis Pigmentosa. *Clin Genet.* 1995; 48(3): 120-122.
25. Corton M, Nishiguchi KM, Avila-Fernández A et al. Exome sequencing of index patients with retinal dystrophies as a tool for molecular diagnosis. *PLoS One.* 2013; 8(6): e65574.
26. Iancu IF, Perea-Romero I, Núñez-Moreno G et al. Aggregated genomic data as cohort-specific allelic frequencies can boost variants and genes prioritization in non-solved cases of inherited retinal dystrophies. *IJMS.* 2022; 23(15): 8431.

27. Romero R, de la Fuente L, Del Pozo-Valero M et al. An evaluation of pipelines for DNA variant detection can guide a reanalysis protocol to increase the diagnostic ratio of genetic diseases. *NPJ Genom Med.* 2022; 7(1): 7.
28. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5): 405-424.
29. Riveiro-Alvarez R, Aguirre-Lamban J, López-Martínez MA et al. Frequency of ABCA4 mutations in 278 Spanish controls: an insight into the prevalence of autosomal recessive Stargardt disease. *Brit J Ophthalmol.* 2009; 93(10): 1359-1364.
30. Reurink J, de Vrieze E, Li CHZ et al. Scrutinizing pathogenicity of the USH2A c.2276 G > T; p.(Cys759Phe) variant. *NPJ Genom Med.* 2022; 7(1): 37.
31. Maeda A, Yoshida A, Kawai K et al. Development of a molecular diagnostic test for retinitis pigmentosa in the Japanese population. *JPN J Ophthalmol.* 2018; 62(4): 451-457.
32. Motta FL, Martin RP, Filippelli-Silva R, Salles MV, Sallum JMF. Relative frequency of inherited retinal dystrophies in Brazil. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 15939.
33. Bravo-Gil N, González-del Pozo M, Martín-Sánchez M et al. Unravelling the genetic basis of simplex retinitis pigmentosa cases. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 41937.
34. Tiwari A, Bahr A, Bähr L et al. Next generation sequencing based identification of disease-associated mutations in Swiss patients with retinal dystrophies. *Sci Rep.* 2016; 6(1): 28755.
35. Weisschuh N, Obermaier CD, Battke F et al. Genetic architecture of inherited retinal degeneration in Germany: a large cohort study from a single diagnostic center over a 9-year period. *Hum Mutat.* 2020; 41(9): 1514-1527.
36. Whelan L, Dockery A, Wynne N et al. Findings from a genotyping study of over 1000 people with inherited retinal disorders in Ireland. *Genes.* 2020; 11(1): 105.
37. Chheda H, Palta P, Pirinen M et al. Whole-genome view of the consequences of a population bottleneck using 2926 genome sequences from Finland and United Kingdom. *Eur J Hum Genet.* 2017; 25(4): 477-484.
38. Valverde D, Riveiro-Alvarez R, Bernal S et al. Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 gene in Spanish patients with Stargardt disease: Evidence of a prevalent mutated allele. *Mol Vis.* 2006; 12: 902-908.
39. Del Pozo-Valero M, Riveiro-Alvarez R, Blanco-Kelly F et al. Genotype-Phenotype correlations in a Spanish cohort of 506 families with biallelic abca4 pathogenic variants. *Am J Ophthalmol.* 2020; 219 :195-204.
40. López-Rodríguez R, Lantero E, Blanco-Kelly F et al. RPE65-related retinal dystrophy: Mutational and phenotypic spectrum in 45 affected patients. *Exp Eye Res.* 2021; 212: 108761.

Si desea citar nuestro artículo:

Perea-Romero I, Fernández-Caballero L, Iancu IF, Rodilla C, Martín-Mérida I, Ávila-Fernández A, Almoguera B, Riveiro-Álvarez R, Trujillo-Tiebas MJ, Lorda-Sánchez I, Tahsin-Swafiri S, López-Grondona F, Sánchez AI, Blanco-Kelly F, del Pozo-Valero M, Mínguez P, Millán JM, Martín-Gutiérrez P, Jiménez-Rolando B, Carreño E, García-Sandoval B, Cortón M, Ayuso C. *Distrofias Hereditarias de Retina en España: tres décadas de estudio epidemiológico, clínico y genético.* *An RANM.* 2022;139(03): 274-284. DOI: 10.32440/ar.2022.139.03.rev08
