

APLICACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN MASIVA AL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES OFTALMOLÓGICAS

EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE ESTAS ENFERMEDADES PERMITE CONFIRMAR EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO, ESTABLECER EL PRONÓSTICO Y SELECCIONAR LA TERAPIA MÁS INDICADA PARA CADA PACIENTE. ADEMÁS, PERMITE OFRECER UN ASESORAMIENTO GENÉTICO A LA FAMILIA, ESTABLECIENDO EL PATRÓN DE HERENCIA DE LA PATOLOGÍA E INDICANDO LA PROBABILIDAD DE TRANSMITIRLA.

■l desarrollo de la tecnología de secueciación masiva o Next-generation Sequencing (NGS) ha permitido llevar a cabo un extraordinario salto tecnológico en el abordaje de los estudios genéticos. Este desarrollo, junto con los avances en el campo de la bioinformática, permiten hoy en día el estudio masivo y simultáneo de millones de fragmentos de ADN en un único experimento, ayudando a encontrar respuesta a muchas de las cuestiones inherentes al desarrollo de las enfermedades genéticas humanas. Además, el abaratamiento progresivo de los costes de secuenciación hace que cada año sean más los grupos de investigación interesados en estudiar enfermedades genéticas empleando secuenciación masiva, al mismo tiempo que aumenta la cantidad de enfermedades humanas en las que se aplica a nivel asistencial.

Entre las principales aproximaciones de análisis NGS que existen en la actualidad encontramos, a nivel de ADN:

- Estudio de genoma completo (WGS, Whole Genome Sequencing) en el que se secuencia el 100 % del ADN.
- Estudio de exoma completo (WES, *Whole Exome Sequencing*), en el que se secuencia el 2 % del ADN que ocupan los genes.
- Análisis del subconjunto de genes específicos implicados en la patología que se quiere estudiar. Este análisis puede realizarse de dos maneras: mediante el uso de paneles de captura o mediante exomas dirigidos.

De estas tres opciones, actualmente, la aproximación más utilizada a nivel diagnóstico son los exomas dirigidos, los cuales implican la secuenciación de todas las regiones genómicas codificantes para la obtención de la máxima información genética posible del paciente. A partir de la secuenciación de más de 22.000 genes se pueden seleccionar, de manera secuencial, los genes a estudiar en función del fenotipo del paciente. Una vez obtenidos los datos de secuenciación, se analizan las diferentes variantes en base al conocimiento científico actual y desde un punto de vista clínico.

Además, el estudio de exoma completo ofrece dos ventajas muy importantes: 1) la posibilidad de identificar nuevos genes con significado clínico y detectar nuevas variantes o genes asociados a la patología aún no descritos; 2) proporciona la opción de reanalizar nuevos genes candidatos que sean asociados a patología en el futuro sin necesidad de volver a secuenciar, lo que disminuye costes y tiempos de respuesta.

Por su parte, a nivel de ARN, destacan los estudios de expresión de genes mediante la secuenciación RNA-seq. En este caso, el objetivo no es identificar variantes genéticas presentes en el ADN, sino cuantificar los niveles de expresión génica y relacionarla con

diferentes aspectos a estudio (aparición de enfermedad, respuesta a tratamiento, etc.). Este tipo de estudios no se aplican aún a nivel asistencial, sin embargo, poseen un gran potencial para ayudar a entender las bases moleculares de muchas enfermedades humanas y su aplicación en el diagnóstico podrá utilizarse como un complemento a los análisis genómicos o independientemente de estos.

Enfermedades oftalmológicas con base genética

Las enfermedades oftalmológicas son problemas oculares y de la visión. En algunos casos pueden generar pequeñas molestias en los ojos o, incluso, pasar desapercibidas, pero sin un diagnóstico y tratamiento temprano pueden desencadenar graves problemas, como la pérdida total de la visión. Muchas de ellas tienen un origen genético, y pueden estar presentes desde el nacimiento o desarrollarse a lo largo de la vida. Su diagnóstico clínico es complejo, ya que presentan fenotipos solapantes, especialmente cuando la patología se encuentra en un estado avanzado. El diagnóstico genético de estas enfermedades permite confirmar el diagnóstico clínico, establecer el pronóstico y seleccionar la terapia más indicada para cada paciente. Además, permite ofrecer un asesoramiento genético a la familia, estableciendo el patrón de herencia de la patología e indicando la probabilidad de transmitirla. Determinar la causa genética de estas patologías posibilita también la identificación de portadores asintomáticos que aún no han desarrollado la enfermedad, pero que muy probablemente la podrán desarrollar en el futuro.

Entre los principales grupos de enfermedades oftalmológicas con base genética encontramos:

- Distrofias hereditarias de la retina. Las distrofias retinianas son un conjunto de enfermedades que conducen a la degeneración de las células fotorreceptoras (conos y bastones) de la retina, provocando una pérdida progresiva y severa de la visión. Son clínica y genéticamente muy heterogéneas ya que una misma patología puede estar causada por mutaciones en varios genes y, a la inversa, un mismo gen puede estar relacionado con diferentes enfermedades. Además, hasta un 30 % de los casos se asocian a formas sindrómicas, como el síndrome de Usher o la enfermedad de Bardet-Biedl.
- **Distrofia macular**. La distrofia macular es una enfermedad genética que afecta a la mácula de la retina de forma precoz y provoca su degeneración. Afecta a los dos ojos y se revela como una lesión de color amarillento en la mácula.
- **Distrofia corneal**. Las distrofias corneales son un grupo de trastornos oculares genéticos raros que se caracterizan por una pérdida de transparencia de la córnea debido a la acumulación de material anormal en una o varias capas que la forman alterando su estructura y función. La mayoría de las distrofias corneales afectan a ambos ojos, progresan lentamente y se transmiten de forma hereditaria.
- **Vitreorretinopatías**. Las vitreorretinopatías son un conjunto de patologías que se caracterizan por la degeneración del humor vítreo y la retina, la presencia de cataratas prematuras y una elevada predisposición a sufrir desprendimientos de retina.
- **Desórdenes neuroftalmológicos**. Las alteraciones neuroftalmológicas son aquellas enfermedades que afectan al nervio óptico y suelen manifestarse con pérdidas bruscas de la visión en un o los dos ojos. Pueden afectar únicamente al sistema visual o ir acompañados de otras alteraciones neurológicas.
- **Malformaciones ópticas**. Las malformaciones oculares congénitas constituyen un amplio grupo de alteraciones de la organogénesis del ojo, que pueden originarse por alteraciones genéticos durante el desarrollo embrionario. Las malformaciones oculares pueden ocurrir de manera aislada o como parte de un síndrome genético complejo.

ENFERMEDADES OFTALMOLÓ-GICAS CON BASE GENÉTICA

- Distrofias hereditarias de la retina
- Distrofia macula
- Distrofia corneal
- Vitreorretinopatías
- Desórdenes neuroftalmológico
- Malformaciones ópticas
- Glaucoma
- Albinism
- **Glaucoma**. El glaucoma se caracteriza por un daño progresivo del nervio óptico y defectos irreversibles en el campo de la visión. Generalmente se produce cuando se acumula fluido en la parte delantera del ojo, lo que da lugar a una presión intraocular elevada que daña el nervio óptico.
- Albinismo oculocutáneo. El término Albinismo hace referencia a un grupo de trastornos hereditarios en los que hay poca o ninguna producción del pigmento melanina, dando lugar a una ausencia de coloración de piel, pelo y ojos. Esta enfermedad también causa problemas de la vista, como visión borrosa, movimientos oculares rápidos, estrabismo y aumento de la sensibilidad a la luz.

En resumen, la secuenciación masiva constituye una tecnología de gran valor en el diagnóstico de enfermedades humanas de base genética incluidas las enfermedades oftalmológicas. En los próximos años, su aplicación al estudio del genoma completo y del transcriptoma se unirá al estudio de los genes con significación clínica conocida que se realiza actualmente a nivel asistencial, mejorando el diagnóstico de estas enfermedades y el manejo clínico y terapéutico de los pacientes que las padecen.

LA SECUENCIACIÓN MASIVA CONSTITUYE UNA TECNOLOGÍA DE GRAN VALOR EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES HUMANAS DE BASE GENÉTICA, INCLUIDAS LAS ENFERMEDADES OFTALMOLÓGICAS

Autores: **Leyre Larzabal**, responsable de Genética Clínica en Dreamgenics **Carlos Martínez**, director técnico en Dreamgenics