

EJEMPLO PRÁCTICO

Paciente de 30 años de edad, derivada de otro centro hospitalario para estudio molecular de retinosis pigmentaria (RP; 268000), con ceguera nocturna desde los 5 años, disminución del campo visual desde los 7 años y disminución de la agudeza visual desde los 20 años. Las pruebas oftalmológicas realizadas a los 30 años muestran agudeza visual de 0.2/0.2 (ojo derecho/ojo izquierdo), campo visual tubular y fondo de ojo típico de RP.

Las distrofias hereditarias de retina son un conjunto de enfermedades hereditarias, generalmente degenerativas y progresivas, causadas por la afectación primaria de los fotorreceptores, que no tienen en el momento actual un tratamiento ni paliativo ni curativo, con lo que conduce a la pérdida parcial o total de la visión. La RP es la distrofia de retina más común, con una prevalencia aproximada de 1 en 4000. Se caracteriza por una degeneración primaria de los bastones causando ceguera nocturna, reducción progresiva del campo visual y acumulación de pigmento en la retina periférica en el fondo de ojo en estadios tempranos de la enfermedad, que puede llevar a la ceguera después de varias décadas.

La RP presenta una elevada heterogeneidad, tanto clínica como genética, con formas de herencia autosómica recesiva, autosómica dominante o ligada al cromosoma X, fundamentalmente. Debido a esta gran heterogeneidad y el gran número de genes asociados, el diagnóstico molecular es complejo, siendo de gran utilidad la secuenciación masiva para el diagnóstico molecular de los pacientes.

Por la clínica de la paciente, la historia familiar (Figura 3), y dado que la mayoría de las mutaciones asociadas a RP son mutaciones puntuales, se realizó en el caso índice el estudio de un panel de secuenciación masiva de 73 genes asociados a RP, siendo negativo.

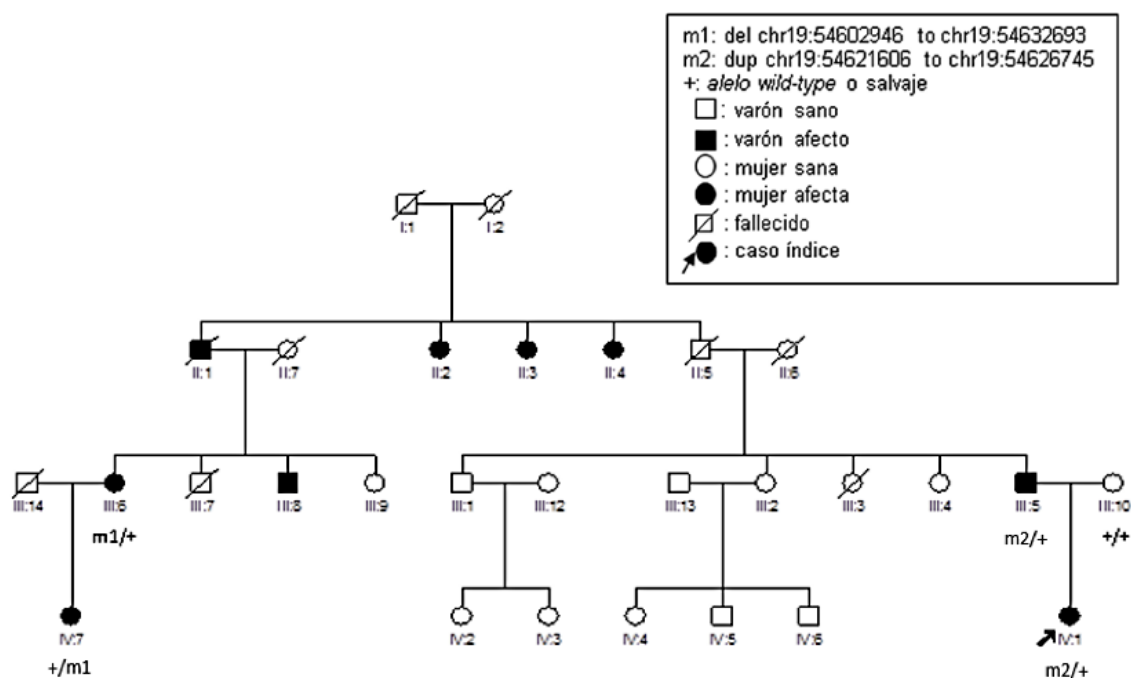


Figura 3: Árbol familiar con el resultado de la segregación.

Posteriormente, debido a que aproximadamente el 2 % de los casos de retinosis pigmentaria autosómica dominante (adRP) presentan deleciones en el gen *PRPF31* (606419), se realizó un MLPA (P235-Retinitis Pigmentosa kit, MRC-Holland), encontrándose una duplicación de los exones 2 al 5 en el gen *PRPF31* (individuos IV:1 y III:5). El estudio molecular se amplió al resto de los familiares, encontrándose una deleción de los exones 1 al 13 en el mismo gen (individuos III:6 y IV:7) (Figura 4). Ambos hallazgos se confirmaron por aCGH (*array-based comparative genomic hybridization*) 400k (Figura 5) y PCR larga, en el caso de la duplicación.

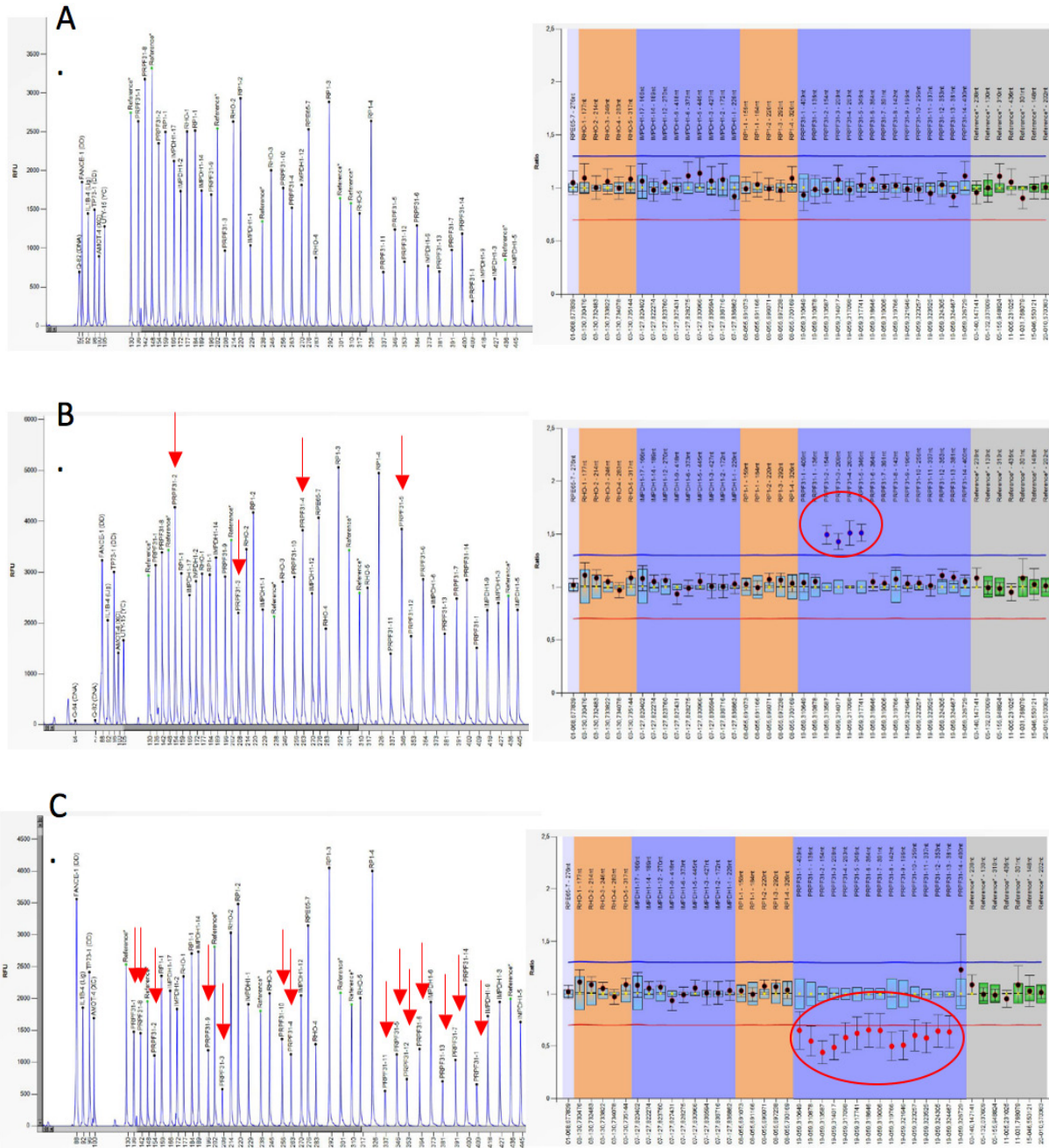


Figura 4: Resultados del MLPA P-235. A la izquierda, datos de la electroforesis capilar. A la derecha, gráficos del software Coffalyser. Alteraciones marcadas en rojo. A. Normal. B. Duplicación de los exones 2 al 5 del gen *PRPF31*. C. Deleción de los exones 1 al 13 del gen *PRPF31*.

Mediante el MLPA se identificaron dos reordenamientos distintos, una duplicación y una delección en *PRPF31*, segregando en distintos familiares. El aCGH permitió definir los puntos de corte, el tamaño de los reordenamientos (5.1 kb para la duplicación y 29.7 kb para la delección), y ver que la delección incluía otros genes corriente arriba (parte del gen *OSCAR* (606862), *NDUFA3* (603832) y *TFPT* (609519)). Mediante PCR larga se observó que la duplicación estaba en tándem (datos no mostrados).

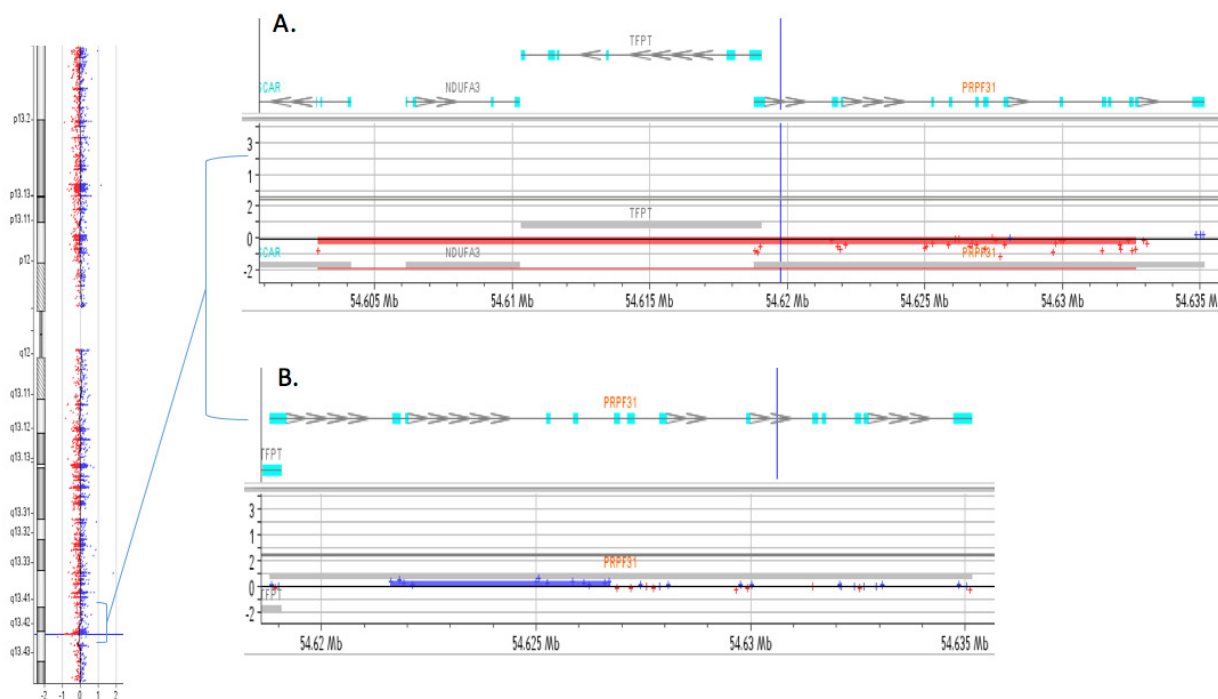


Figura 5: Confirmación por aCGH de los hallazgos obtenidos por MLPA. A. Línea roja, delección de parte del gen *OSCAR*, *NDUFA3*, *TFPT* y exones 1 al 13 del gen *PRPF31*. B. Línea azul, duplicación de los exones 2 al 5 del gen *PRPF31*.

El gen *PRPF31* (pre-mRNA processing factor 31) es uno de los genes más prevalentes en la adRP, se localiza en la región cromosómica 19q13.42, tiene 14 exones y codifica una proteína de 499 aminoácidos, altamente conservada. Este gen presenta penetrancia incompleta, con portadores asintomáticos (como el individuo II:5, portador obligado) debido a un aumento de la expresión del alelo *wild-type*.