



Simposio de ANA 2023: PAX6, Aniridia y más allá

29 de septiembre - 1 de octubre

Trabajando para resolver el rompecabezas de Aniridia

**Un resumen de presentaciones centrado en el
paciente**

Autor

Janelle Collins
Miembro general de la junta de
ANA

Editor

Shari Krantz
Secretario de la junta directiva de
ANA

Revisores

Dr. Robert Grainger, PhD
Dr. James Lauderdale, PhD
Dr. Peter Netland, MD
Kelly Trout, Licenciada en Ciencias,
Enfermera registrada

Publicado en abril del 2024

Introducción

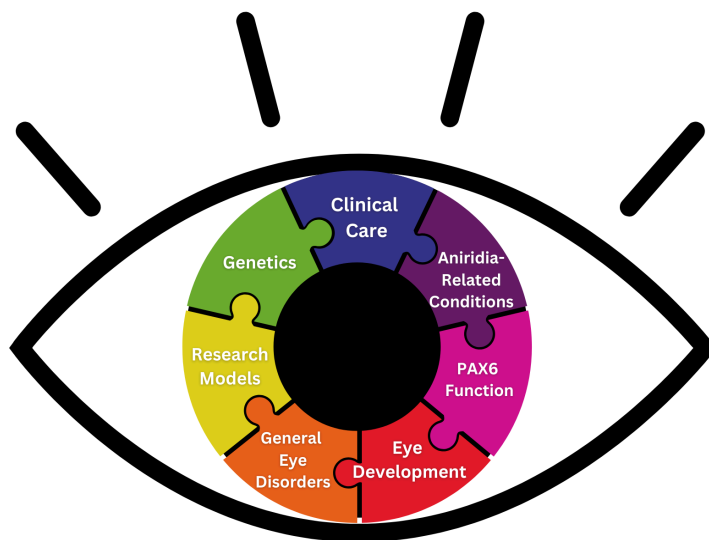
El *Simposio de ANA 2023: PAX6, Aniridia y más allá* se llevó a cabo en la Universidad de Virginia en Charlottesville, del 29 de septiembre al 1 de octubre. A la reunión asistieron científicos, médicos y representantes de organizaciones de abogacía de pacientes.

Esta reunión científica brindó la evaluación más profunda hasta la fecha del papel de *PAX6* y otros genes oculares implicados en la aniridia y trastornos oculares congénitos relacionados. Los presentadores de la reunión se encuentran entre los principales expertos del mundo en estas áreas.

De la misma manera que un grupo trabaja en conjunto para armar un rompecabezas, el progreso en el entendimiento y tratamiento de la aniridia es un esfuerzo colectivo, en el que cada persona aporta perspectivas y habilidades únicas. Durante esta reunión, cada orador aportó una pieza para revelar características inesperadas del rompecabezas de la aniridia.

Como resultado, se consideraron nuevas e interesantes ideas sobre el tratamiento de la aniridia y los trastornos oculares de base genética relacionados, especialmente en lo que respecta a la córnea, el lente natural del ojo (cristalino) y el glaucoma. Igualmente importantes fueron las nuevas colaboraciones desarrolladas entre los presentes.

Este documento explica cómo encaja la presentación de cada orador en el rompecabezas de la aniridia y describe conclusiones importantes en términos amigables para el paciente.



Solving the Aniridia Puzzle

Cómo la ciencia se convierte en medicina



El camino para que las investigaciones científicas se conviertan en una práctica médica estándar está bien establecido, pero no siempre se comprende bien fuera de la comunidad investigadora.

Imaginemos que el proceso científico es un iceberg. La atención clínica que reciben los pacientes es como la punta del iceberg. Esta es la única parte visible para los pacientes la mayor parte del tiempo. Sin embargo, sin las capas fundamentales que se encuentran debajo, la atención clínica no existiría.

El complejo proceso necesario para que cualquier ciencia se convierta en tratamiento médico implica los siguientes pasos:

Investigación en ciencias básicas

La transformación de la ciencia básica en medicina suele comenzar con la investigación

científica básica. En la investigación básica los científicos en un laboratorio intentan aprender cómo funcionan los seres vivos (como células, animales y personas), cómo se desarrollan los cuerpos y qué puede causar problemas como enfermedades o lesiones.

De hecho, los científicos de Harvard examinaron detenidamente el descubrimiento de nuevos fármacos y descubrieron que los programas de ciencia básica impulsados por la curiosidad son la “mejor ruta para la generación de nuevos medicamentos potentes”.¹ Esto significa que la compleja ciencia que se realiza en los laboratorios es absolutamente esencial para futuros avances médicos, aunque a veces sea menos comprensible para los pacientes.

“Eso nos hizo pensar, ¿y si...?”

- Tom Glaser pronunció unas de las palabras más importantes utilizadas en ciencia durante su presentación.

Investigación preclínica

La investigación preclínica se basa en descubrimientos hechos a través de la ciencia básica. Una vez que se identifica un objetivo o enfoque prometedor, se realizan estudios preclínicos.

¹ Spector, J.M., Harrison, R. S., & Fishman, M. C. (2018). Fundamental science behind today's important medicines. *Science translational medicine*, 10(438), eaaq 1787. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag 1787>

Esta fase implica experimentos en cultivos celulares, modelos animales y, a veces, tejidos humanos para probar la seguridad y eficacia de posibles terapias. Los investigadores trabajan para validar sus hallazgos y determinar si una estrategia de tratamiento tiene el potencial de ser efectiva en humanos.

A menudo se ha dicho que hay que “curar al ratón antes de poder curar al humano”. La investigación preclínica es donde los científicos determinan si, efectivamente, el ratón (pez cebra, rana, etc.) se ha curado.

Investigación clínica

Si se obtienen resultados prometedores en las pruebas preclínicas, el siguiente paso es la investigación clínica, que consiste en realizar pruebas en humanos. Durante la investigación clínica, se establecen ensayos que prueban la seguridad y eficacia de nuevas terapias, comenzando con un pequeño número de personas y aumentando gradualmente a medida que se demuestra la seguridad.

La investigación clínica también puede incluir estudios retrospectivos de grupos de pacientes, examinando los procedimientos existentes para así determinar las mejores prácticas y comparar genotipos (es decir, la configuración genética de un organismo) con fenotipos (es decir, los rasgos observables de un organismo) en poblaciones.

Cuidado clínico

Si un ensayo clínico es exitoso, la terapia/tratamiento puede ser aprobado por una agencia reguladora para su uso en la población general.

Al igual que escalar un iceberg, este proceso no suele avanzar fácilmente o en línea recta. Hay momentos en los que el camino es sencillo y el progreso parece rápido, pero también hay momentos en los que el progreso se ve impedido o, de hecho, retrocede. Se necesita prueba y error, tiempo y habilidad para que el proceso pueda generar avances al siguiente nivel.

A lo largo de este proceso, la colaboración entre científicos, médicos, agencias reguladoras, compañías farmacéuticas y comunidades de pacientes es esencial. Parte de la misión de ANA es facilitar esta colaboración dentro del panorama de la aniridia, mejorando así los resultados para las personas con aniridia.

Cuidado clínico

Varios presentadores contribuyeron al rompecabezas del cuidado clínico. Estas presentaciones caen tanto en los niveles de investigación clínica como de cuidado clínico del iceberg científico.



Peter Netland, oftalmólogo y destacado experto en glaucoma en aniridia, fue el anfitrión del simposio. Ha trabajado con pacientes con aniridia durante más de 20 años, es presidente de la junta directiva de ANA y fue investigador principal del ensayo clínico Ataluren en aniridia.

Peter Netland (*Universidad de Virginia, EE.UU.*)

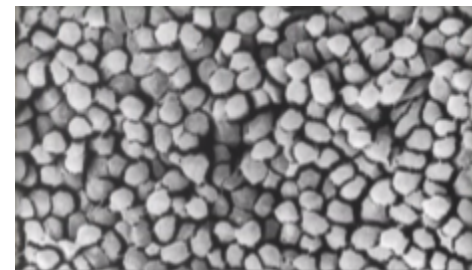
Hay varias opciones para tratar el glaucoma en aniridia quirúrgicamente. ¿Cómo elige un cirujano la mejor opción? Para ayudar a responder esta pregunta, el Dr. Netland presentó una investigación reciente que compara la variedad de procedimientos quirúrgicos que se pueden utilizar para tratar el glaucoma en la aniridia y su efectividad históricamente. También analizó los factores que influyen en la toma de decisiones quirúrgicas.

Conclusión clave

Cuando se publique este estudio, proporcionará un excelente estándar clínico para los cirujanos que realizan cirugías de glaucoma en pacientes con aniridia.

Puntos de discusión adicionales

- La aniridia es un síndrome profibrótico, por lo que es muy importante un enfoque quirúrgico conservador.
- El glaucoma en infantes con aniridia se puede tratar con cirugías diferentes (más estándar) en comparación con el glaucoma con inicio en niños con aniridia o con inicio en adultos con aniridia.
- Recordatorio: De aquellos con aniridia que tienen glaucoma, el 93% tiene glaucoma de ángulo abierto. El 7% restante tiene glaucoma de ángulo cerrado y todos tuvieron cirugías previas.²
- Hubo acuerdo entre los oftalmólogos presentes en que la goniotomía preventiva no se recomienda en pacientes con aniridia.



El Dr. Freeman compartió esta interesante imagen de las células de la córnea.

² Bajwa A, Burstein E, Grainger RM, Netland PA. Anterior chamber angle in aniridia with and without glaucoma. Clin Ophthalmol. 2019;13:1469-1473 <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S217930>

- El consenso del grupo fue que los implantes de drenaje para el glaucoma son útiles en pacientes con aniridia y glaucoma.

John Freeman (*Centro MECA Eye & Laser, EE. UU.*)

El Dr. Freeman brindó una descripción general de los hallazgos clínicos, el manejo actual y las terapias potenciales para la queratopatía relacionada con la aniridia (QRA). Dado que la QRA es una enfermedad de la córnea, y la córnea es la parte frontal transparente del ojo, la QRA está literalmente "justo frente a nuestros ojos".

Conclusión clave

La córnea debería poder curarse y mantenerse a sí misma, pero la QRA es una falla de esa homeostasis corneal. Actualmente no existe una prevención garantizada y los tratamientos existentes dejan mucho que desear. Sin embargo, la comprensión científica de la función y control de *PAX6* están creando un gran potencial para la intervención terapéutica que permitirá que futuras terapias mejoren los resultados clínicos.³

Puntos para pacientes

- La humedad parece ser buena para las córneas anirídicas
- El uso de lágrimas artificiales sin conservantes y gotas de suero autólogo es positivo
- Los antihistamínicos como Benadryl deben usarse con precaución porque resecan los ojos.

Puntos de discusión adicionales

- Aunque no tenemos una forma garantizada de prevenir la progresión de la queratopatía, los tratamientos de sentido común, como las gotas de suero autólogo y las lágrimas sin conservantes, parecen valer la pena.
- Los tratamientos actuales son imperfectos.
 - Los trasplantes de células madre del limbo tienen una tasa de fracaso de hasta el 40 % e implican medicamentos inmunosupresores que pueden tener efectos desagradables. Sin embargo, este procedimiento se puede repetir y, si falla, no resulta destructivo para el ojo.
 - La queratoprótesis de Boston (KPro) tiene una tasa de fracaso a largo plazo de aproximadamente 20%. Si funciona, dará éxito a largo plazo. Si falla, es destructivo para la vista.

³L. Latta, F.C. Figueiredo, R. Ashery-Padan, J.M. Collinson, J. Daniels, S. Ferrari, N. Szentmary, S. Sola, R. Shalom-Feuerstein, M. Lako, S. Xapelli, D. Aberdam, N. Lagali, Pathophysiology of aniridia-associated keratopathy: Developmental aspects and unanswered questions, *The Ocular Surface*, Volume 22, 2021, Pages 245-266, ISSN 1542-0124. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2021.08.001>.

- Los posibles tratamientos tempranos que se están estudiando incluyen:
 - Medicamentos supresores de mutaciones sin sentido como Ataluren.⁴ y Amlexanox;⁵
 - Otros medicamentos reutilizados que aumentarían la expresión de PAX6, como los inhibidores de MEK,⁶ ritanserina,⁷ y duloxetina;⁸ y
 - Usar factores de crecimiento nervioso como Oxervate
- Los posibles tratamientos tardíos que se están estudiando incluyen
 - Terapias de restauración genética.
 - Enfoques quirúrgicos más nuevos
 - Agentes tópicos adicionales y enfoques farmacológicos, como compuestos anti-factor de crecimiento endotelial vascular.⁹
- Los desafíos para traducir estas vías en tratamientos para los pacientes incluyen



John Freeman (derecha) es un oftalmólogo que ha trabajado con pacientes con aniridia durante muchos años, primero durante su beca con Ed Holland y luego en Memphis con Peter Netland (izquierda). Durante este tiempo, fue el primero en caracterizar el síndrome de fibrosis anirídica. John ejerce ahora su práctica privada y se especializa en cirugía de cataratas y enfermedades de la córnea.

⁴ Djayet, C., Bremond-Gignac, D., Touchard, J., Secretan, P.H., Vidal, F., Robert, M. P., Daruich, A., Cisternino, S., & Schlatter, J. (2020). Formulation and Stability of Ataluren Eye Drop Oily Solution for Aniridia. *Pharmaceutics*, 13(1), 7. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010007>.

⁵ Lima Cunha, D., Sarkar, H., Eintracht, J., Harding, P., Zhou, J. H., & Moosajee, M. (2023). Restoration of functional PAX6 in aniridia patient iPSC-derived ocular tissue models using repurposed nonsense suppression drugs. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 33, 240-253. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.06.016>

⁶ Rabiee, B., Anwar, K. N., Shen, X., Putra, I., Liu, M., Jung, R., Afsharkhamseh, N., Rosenblatt, M. I., Fishman, G. A., Liu, X., Ghassemi, M., & Djalilian, A. R. (2020). Gene dosage manipulation alleviates manifestations of hereditary PAX6 haploinsufficiency in mice. *Science translational medicine*, 12(573), eaaz4894. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz4894>

⁷ Oved, K., Zennaro, L., Dorot, O., Zerbib, J., Frank, E., Roux, L. N., Bremond-Gignac, D., Pichinuk, E., & Aberdam, D. (2021). Ritanserin, a potent serotonin 2A receptor antagonist, represses MEK/ERK signalling pathway to restore PAX6 production and function in aniridia-like cellular model. *Biochemical and biophysical research communications*, 582, 100-104. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.10.036>

⁸ Dorot, O., Roux, L. N., Zennaro, L., Oved, K., Bremond-Gignac, D., Pichinuk, E., & Aberdam, D. (2022). The antipsychotropic drug Duloxetine rescues PAX6 haploinsufficiency of mutant limbal stem cells through inhibition of the MEK/ERK signaling pathway. *The ocular surface*, 23, 140-142. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2021.12.003>

⁹ van Velthoven, A. J. H., Utheim, T. P., Notara, M., Bremond-Gignac, D., Figueiredo, F. C., Skottman, H., Aberdam, D., Daniels, J. T., Ferrari, G., Grupcheva, C., Koppen, C., Parekh, M., Ritter, T., Romano, V., Ferrari, S., Cursiefen, C., Lagali, N., LaPointe, V. L. S., & Dickman, M. M. (2023). Future directions in managing aniridia-associated keratopathy. *Survey of ophthalmology*, 68(5), 940-956. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2023.04.003>

- PAX6 es sensible a la dosis y al momento, lo que dificulta obtener los niveles correctos.
- Llevar un tratamiento de modelos animales y celulares a humanos puede ser difícil y llevar mucho tiempo debido al alto umbral de seguridad requerido.
- La queratopatía temprana ofrece la mayor oportunidad de corrección, pero es difícil medir la desaceleración de la progresión de la enfermedad, lo que dificulta proporcionar criterios de valoración de estudio significativos que requieran un tiempo considerable.

Ken Nischal (*Universidad de Pittsburgh, EE. UU.*)

Mientras que la aniridia causada por mutaciones en el gen PAX6 generalmente no implica opacidades corneales al nacer, a veces sí lo hace la aniridia debida a otras causas genéticas. En su presentación, el Dr. Nischal discutió casos de opacidades corneales congénitas resultantes de mutaciones en los genes FOXC1, PITX2, CYP1B1, y FOXE3 que tenían una presentación similar a la aniridia.

Conclusión clave

Para garantizar que el paciente reciba el diagnóstico correcto, la genética molecular es increíblemente importante en los casos de aniridia congénita con opacidades corneales presentes al nacer.

Punto de discusión adicional

Cuando hay opacidades corneales congénitas, puede resultar difícil mirar dentro del ojo las estructuras restantes para determinar si hay alguna anomalía. La ecografía de alta frecuencia, a menudo disponible en una unidad de cuidados intensivos neonatal (UCIN), se puede utilizar para determinar el estado del iris y el cristalino.



Ken Nischal (en la imagen hablando virtualmente) es oftalmólogo y pionero de los trasplantes de córnea pediátricos. A menudo le envían casos difíciles de niños con opacidades corneales al nacer. Ha publicado numerosas publicaciones sobre temas de cataratas, glaucoma y córnea pediátrica.



Kevin Gregory-Evans es un oftalmólogo especializado en enfermedades oculares genéticas, incluida la aniridia. Fue investigador principal del ensayo clínico Ataluren.

Kevin Gregory Evans

(*Universidad de Columbia Británica, Canadá*)

Utilizando el ejemplo de la retinitis pigmentosa, una enfermedad ocular, el Dr. Kevin Gregory-Evans analizó lo fácil que es diagnosticar erróneamente una enfermedad ocular genética. Dio muchos ejemplos en los que algo parecía retinitis pigmentosa a primera vista, pero una vez investigado a fondo resultó ser otra cosa.

Conclusión clave

Debido a que el diagnóstico médico es una ciencia imperfecta, se producen diagnósticos erróneos. La genética molecular es particularmente importante para confirmar diagnósticos, pero cuando las pruebas genéticas no pueden encontrar la causa, es especialmente importante investigar a fondo la situación antes de pronunciar un diagnóstico.

Precaución para los médicos

Los pacientes tienden a sentirse identificados con su diagnóstico, por lo que si este cambia, puede ser muy impactante. Por lo tanto, es importante realizar investigaciones exhaustivas cuando los casos no son claros.

Puntos para los Pacientes

- Recuerden que las ciencias médicas son imperfectas.
- Hasta que un diagnóstico sea conformado con genetics, tengan cuidado de aceptar completamente ese diagnóstico.

Puntos para pacientes

- El diagnóstico genético temprano puede mejorar el tratamiento de los pacientes
- Si ya se ha encontrado una mutación definitiva en *PAX6* u otro gen, repetir las pruebas genéticas no cambiará el diagnóstico.
- Es importante repetir las pruebas si no se identificó una mutación definitiva, si la última prueba se realizó hace muchos años o si los resultados obtenidos fueron una "variante de significado incierto" o VSI.
- Cuando un resultado fue una VSI, Semina Lab puede tener más información sobre el significado de esa variante y puede actualizar la información de las pruebas genéticas con esos resultados.
- Las familias que estén inscritas en el estudio en Semina Lab recibirán sus resultados genéticos si una variante significativa se descubre, generalmente sin costo para la familia.

Puntos de discusión adicionales

El gen que muta en la aniridia se asocia con diferentes características que pueden encontrarse en un paciente.

- Las mutaciones de *PAX6* son con mayor frecuencia la causa de la aniridia. Sin embargo, las mutaciones de *PAX6* también pueden dar lugar a fenotipos distintos de la aniridia, como microftalmía, microcórnea y anomalía de Peter.
- Las mutaciones de *FOXC1* a menudo resultan en glaucoma congénito, anomalías cardíacas, pérdida de audición, anomalías esqueléticas y más.
- Las mutaciones de *PITX2* generalmente involucran glaucoma del desarrollo, anomalías dentales/craneofaciales, problemas gastrointestinales y umbilicales, y más.
- El conocimiento acerca del gen *MAB21L1* en aniridia es todavía relativamente nuevo. Actualmente parece que se asocian microftalmia, microcórnea, cataratas y más, pero no características sistémicas.

Tom Glaser (*Universidad de California, Davis, EE.UU.*)¹¹ Cada vez que los investigadores descubren un conjunto de malformaciones causadas por un área del genoma humano previamente desconocida, se considera un avance importante en la ciencia básica. El Dr. Glaser informó sobre uno de esos resultados recientes descubierto en su laboratorio. Este estudio informó sobre un nuevo conjunto de malformaciones oculares y cerebrales que resultaron de un gen regulador maestro que dirige el desarrollo de segmentos o estructuras corporales particulares.

¹¹ Glaser, T., Walton, D.S., & Maas, R. L. (1992). Genomic structure, evolutionary conservation and aniridia mutations in the human *PAX6* gene. *Nature genetics*, 2(3), 232-239. <https://doi.org/10.1038/ng1192-232>



Tom Glaser investiga las bases genéticas del desarrollo ocular en mamíferos y las malformaciones oculares congénitas. Trabajando con David Walton en 1992, Tom fue el primero en descubrir que la aniridia en humanos era el resultado de mutaciones en el gen PAX6.

Conclusión clave

La presentación del Dr. Glaser reveló un mecanismo inesperado de enfermedad genética. Si bien en este momento no se sabe específicamente que esté relacionado con la aniridia, es información esencial para el futuro.

Puntos de discusión adicionales

Dado que se trata de un descubrimiento nuevo e inédito, es posible que existan otras enfermedades o afecciones que aparecen en la edad adulta y que sean causadas por inserciones o eliminaciones en esta ubicación particular del genoma; aún no lo sabemos. Los investigadores están empezando a estudiar estas posibilidades.

- Este estudio proporciona un contexto importante para las presentaciones de Janey Wiggs y Ruth Ashery-Padan.

Cheryl Gregory Evans¹² (Universidad de Columbia Británica, Canadá)

Ahora que hay nuevos tratamientos de terapia génica disponibles para enfermedades oculares del desarrollo o de aparición temprana, es cada vez más importante tener un diagnóstico genético confirmado para recibir el tratamiento adecuado.

Hay una acumulación de solicitudes de pruebas pendientes en los departamentos de genética médica, lo que está afectando a los pacientes con enfermedades oculares en Canadá. La Dra. Gregory-Evans presentó datos que evalúan el éxito y la puntualidad de las pruebas genéticas en una clínica especializada en genética ocular en Canadá.



Cheryl Gregory-Evans se centra en comprender las bases moleculares de las enfermedades oculares y cerebrales humanas, utilizando sistemas modelo de pez cebra, ratón y lagarto. Cheryl fue responsable de la investigación preclínica realizada en ratones que condujo al ensayo clínico de Ataluren en humanos con aniridia.

¹² Wang, X., Gregory-Evans, K., Wasan, K. M., Sivak, O., Shan, X., & Gregory-Evans, C. Y. (2017). Efficacy of Postnatal In Vivo Nonsense Suppression Therapy in a Pax6 Mouse Model of Aniridia. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 7, 417-428. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.05.002>.

Conclusión clave

Una clínica especializada en genética ocular puede brindar un servicio más rápido en Canadá que un departamento de genética médica estándar.

Precaución para los médicos

Es importante realizar una correlación clínica con los resultados genéticos antes de comunicarlos a los pacientes.

Punto para pacientes

Esta presentación brindó a los asistentes una mejor comprensión del sistema médico de Canadá.

Janey Wiggs (Escuela de Medicina de Harvard, EE. UU.)

Es importante comprender los genes que causan o contribuyen a la susceptibilidad al glaucoma. Esto permite a los médicos identificar a las personas con alto riesgo de padecer glaucoma antes de que aparezcan síntomas, lo que facilita la conservación de la visión.

Muchos genes que causan el glaucoma infantil, incluidos los responsables de la aniridia, muestran cursos de enfermedad muy diferentes en diferentes individuos. Incluso los miembros de la familia con exactamente la misma mutación pueden tener diferentes presentaciones de glaucoma. Identificar los factores que influyen en estos resultados variables relacionados con las mutaciones genéticas que causan enfermedades podría ayudar a proporcionar información más precisa y una mejor comprensión de por qué ciertos individuos desarrollan glaucoma y otros no.



Janey Wiggs (derecha) es conocida internacionalmente como experta en glaucoma complejo y avanzado y la genética que lo causa. Su investigación durante los últimos 20 años ha proporcionado información crítica sobre la biología de la enfermedad.

El Dr. Wiggs describió un estudio en el que investigaron el impacto de una puntuación de carga genética (una puntuación de riesgo poligénico¹³ o PRP) sobre el riesgo de desarrollar glaucoma en personas que portan una mutación genética que se sabe está asociada con la enfermedad

¹³ Craig, J. E., Han, X., Qassim, A., Hassall, M., Cooke Bailey, J. N., Kinzy, T. G., Khawaja, A. P., An, J., Marshall, H., Gharahkhani, P., Igo, R. P., Jr, Graham, S. L., Healey, P. R., Ong, J. S., Zhou, T., Siggs, O., Law, M. H., Souzeau, E., Ridge, B., Hysi, P. G., ... MacGregor, S. (2020). Multitrait analysis of glaucoma identifies new risk loci and enables polygenic prediction of disease susceptibility and progression. *Nature genetics*, 52(2), 160-166. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0556-y>

de aparición temprana.¹⁴ Entre los portadores de mutaciones, encontraron que las personas que tienen una carga genética alta, o una puntuación PRP alta, tenían más probabilidades de desarrollar glaucoma en comparación con las personas con una puntuación baja, lo que sugiere que sería útil incluir la puntuación PRP en la prueba genética.

Conclusión clave

Investigaciones futuras en esta área pueden mostrar que las puntuaciones PRP son útiles para predecir qué personas con aniridia tienen mayor riesgo de desarrollar glaucoma.

¹⁴ Victor Anthony de Vries, Akiko Hanyuda, Joelle Vergroesen, Ron Do, David S Friedman, Peter Kraft, Yuyang Luo, Jessica Tran, Sze H Wong, Nazlee Zebardast, Caroline C W Klaver, Janey L Wiggs, Ayellet V. Segre, Jae H Kang, Wishal Ramdas, Louis R Pasquale; The clinical utility of a glaucoma polygenic risk score in four European-ancestry cohorts. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2023;64(8):99.

Condiciones relacionadas con la aniridia

Aunque el nombre “aniridia” se centra en el iris, la afección es panocular, lo que significa que puede afectar a todo el ojo. Las complicaciones pueden ocurrir en otras partes de la anatomía del ojo, incluida la córnea, el cristalino, la cámara anterior, la retina, la película lagrimal y el nervio óptico. También puede haber complicaciones sistémicas relacionadas con la aniridia. Se están llevando a cabo investigaciones clínicas y preclínicas en todas estas diferentes condiciones.



Dominique Brémond-Gignac (Universidad de París, Francia)

La aniridia congénita relacionada con *PAX6* se caracteriza por un iris hipoplásico o ausente e hipoplasia foveal (subdesarrollo de la fovea, que es la parte de la retina responsable de la visión más detallada). Recientemente se ha demostrado que, en pacientes que albergan mutaciones de *PAX6*, la hipoplasia foveal se encuentra con más frecuencia que la ausencia completa de iris.

La Dra. Bremond-Gignac describió dos estudios separados relacionados con la aniridia. El primero caracteriza los trastornos de la retina que ocurren en la aniridia congénita y correlaciona el grado de hipoplasia foveal con la mejor agudeza visual corregida, mutación de *PAX6* y grado de hipoplasia del iris.¹⁵ El segundo estudio caracterizó la hipoplasia del disco óptico en la aniridia e investigó la relación entre la hipoplasia del disco óptico y la hipoplasia foveal.

Conclusión clave

La hipoplasia foveal es el signo más confiable para confirmar un diagnóstico de aniridia congénita, incluso más confiable que la hipoplasia del iris.¹⁶



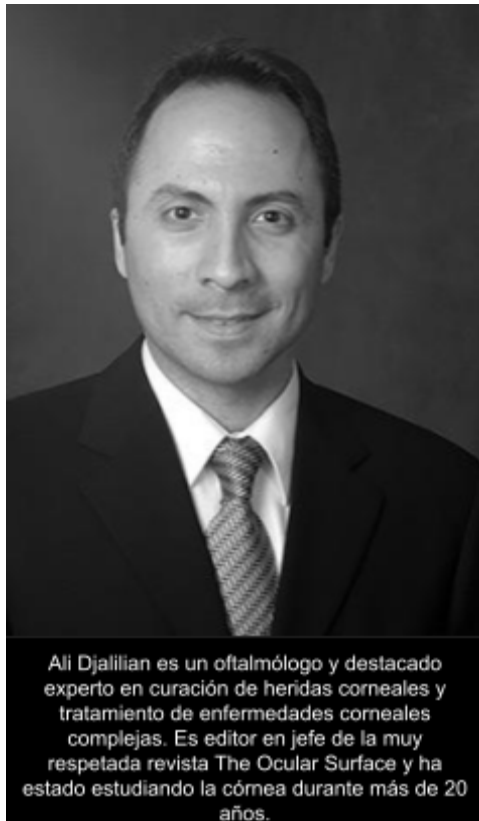
Dominique Brémond-Gignac (izquierda), con John Morris, presidente de la junta directiva de IWSA, es un oftalmólogo involucrado en estudios de fenotipo y genotipo de enfermedades raras, especialmente la aniridia. Dominique también es presidente del Comité Científico de Aniridia Europa y de la Asociación Geniris en Francia.

¹⁵Daruich, A., Robert, M. P., Leroy, C., DE Vergnes, N., Beugnet, C., Malan, V., Valleix, S., & Bremond-Gignac, D. (2022). Foveal Hypoplasia Grading in 95 Cases of Congenital Aniridia: Correlation to Phenotype and *PAX6* Genotype. *American journal of ophthalmology*, 237, 122-129. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2021.12.007>

¹⁶Daruich, A., Duncan, M., Robert, M. P., Lagali, N., Semina, E. V., Aberdam, D., Ferrari, S., Romano, V., des Roziers, C. B., Benkortebi, R., De Vergnes, N., Polak, M., Chiambaretta, F., Nischal, K. K., Behar-Cohen, F., Valleix, S., & Bremond-Gignac, D. (2023). Congenital aniridia beyond black eyes: From phenotype and novel genetic mechanisms to innovative therapeutic approaches. *Progress in retinal and eye research*, 95, 101133.

Puntos de discusión adicionales

- Los genes tienen diferentes regiones que sirven para diferentes propósitos. Al final del gen *PAX6* hay una región llamada región reguladora 3'. Esta región es como la parte final de una receta que indica cuándo detenerse, cómo ajustar la velocidad de cocción y cómo asegurarse de que la receta quede perfecta. Deleciones restringidas a esta región reguladora 3' de *PAX6* son las únicas variantes / mutaciones de *PAX6* que no están asociadas con hipoplasia foveal grave (grado 3 o 4).
- El grado de hipoplasia foveal se correlaciona con la baja visión y puede ayudar a decidir si son necesarios más tratamientos o investigaciones para mejorar la agudeza visual del paciente.
- La cantidad de vasos sanguíneos (es decir, la vasculatura) en la fovea y las áreas parafoveales es significativamente diferente en la aniridia en comparación con los controles (individuos sin aniridia).



Ali Djalilian (*Universidad de Illinois en Chicago, EE.UU.*)

Agregando al tema de la queratopatía relacionada con la aniridia presentado por John Freeman, Ali Djalilian proporcionó actualizaciones sobre la investigación clínica y preclínica que se está realizando sobre los tratamientos para QRA, incluidos múltiples métodos que su laboratorio ha estado investigando.

El primer método discutido fue la reutilización de inhibidores de MEK—una clase de medicamentos que ayuda a controlar el crecimiento y la supervivencia celular— para aumentar la expresión de *PAX6*, lo que produjo resultados maravillosos en córneas de ratones.¹⁷ El Dr. Djalilian analizó los desafíos y los próximos pasos con respecto a esa línea particular de investigación, incluida la necesidad de determinar modelos animales apropiados para las pruebas, la seguridad a largo plazo de los inhibidores de MEK aplicados tópicamente y la etapa óptima para la intervención.

¹⁷ Rabiee, B., Anwar, K. N., Shen, X., Putra, I., Liu, M., Jung, R., Afsharkhamseh, N., Rosenblatt, M. I., Fishman, G. A., Liu, X., Ghassemi, M., & Djalilian, A. R. (2020). Gene dosage manipulation alleviates manifestations of hereditary *PAX6* haploinsufficiency in mice. *Science translational medicine*, 12(573), eaaz4894. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz4894>

El segundo método discutido fue el uso de células estromales mesenquimales (CEM). Estas CEM son un tipo de célula que dan origen a la mayoría de los tejidos del cuerpo, como la piel, la sangre y los huesos. Las CEM son multipotentes, lo que significa que pueden convertirse en múltiples tipos diferentes de células. Se encuentran en muchos tejidos adultos y son fundamentales para el mantenimiento y la reparación de los tejidos. Debido a estas cualidades, las CEM se están investigando en muchas áreas diferentes como una forma de crear terapias basadas en células. En la córnea, se ha demostrado que tienen efectos antiinflamatorios y anticicatrizantes.¹⁸ El laboratorio del Dr. Djalilian llevó a cabo un pequeño ensayo utilizando una forma inyectable de CEM en humanos con heridas oculares que no cicatrizaban para determinar los niveles de seguridad.¹⁹ Próximamente comenzará la siguiente fase de ensayos clínicos, que implicará un ensayo multicéntrico con placebo para determinar si estas CEM son realmente útiles.

El tercer método discutido fue el uso de una gota para los ojos que contenía un medio condicionado conocido como Secretoma. Este medio condicionado es como un caldo que, a diferencia de las inyecciones de CEM mencionadas anteriormente, no contiene las células madre reales, sino que contiene factores producidos por esas células. Se ha demostrado que el secretoma tiene efectos curativos para las lesiones oculares en ratones.²⁰ A finales del 2023 comenzó un ensayo clínico de fase I, principalmente para pruebas de seguridad de este Secretoma, e incluye algunos pacientes con aniridia que tienen QRA.

Conclusión clave

Se están investigando múltiples métodos para tratar QRA y curar lesiones corneales, incluidos los ensayos clínicos actuales. Un ensayo clínico involucra a pacientes con aniridia.

Punto para pacientes

El ensayo clínico de fase I de Secretoma está inscribiendo pacientes en este momento. Algunos pacientes con aniridia y QRA de leve a moderada pueden calificar.

Melinda Duncan (*Universidad de Delaware, EE.UU*)

¹⁸ Putra, I., Shen, X., Anwar, K. N., Rabiee, B., Samaeekia, R., Almazyad, E., Giri, P., Jabbehdari, S., Hayat, M. R., Elhusseiny, A. M., Ghassemi, M., Mahmud, N., Edward, D. P., Joslin, C. E., Rosenblatt, M. I., Dana, R., Eslani, M., Hematti, P., & Djalilian, A. R. (2021). Preclinical Evaluation of the Safety and Efficacy of Cryopreserved Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells for Corneal Repair. *Translational vision science & technology*, 10(10),3. <https://doi.org/10.1167/tvst.10.10.3>

¹⁹ Arthur Yukuang Chang, Mohammad Soleimani, Rebecca Jung, Grace Tu, Reza Dana, Bennie H Jeng, Peiman Hematti, Nadim Mahmud, Elmer Y. Tu, Charlotte E. Joslin, Ali R Djalilian; Phase I Study on the Safety of Locally Delivered Allogeneic Mesenchymal Stem Cells for Promoting Corneal Repair. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2023;64(8):3136.

²⁰ Amirjamshidi H, Milani BY, Sagha HM, Movahedan A, Shafiq MA, Lavker RM, Yue BY, Djalilian AR. Limbal fibroblast conditioned media: a non-invasive treatment for limbal stem cell deficiency. *Mol Vis.* 2011 Mar 8;17:658-66. PMID: 21403854; PMCID: PMC3056128.

Las lentes son estructuras oculares transparentes que ayudan a enfocar la luz entrante para que podamos ver los objetos con claridad. Las personas con aniridia suelen nacer con lentes transparentes que los médicos ven normales; sin embargo, al final de la niñez o al comienzo de la edad adulta, la mayoría de las personas con aniridia desarrollan cataratas, una condición en la que el cristalino se vuelve turbio, bloqueando la capacidad de ver con claridad.

Si bien esta es una consecuencia común de la aniridia, realmente no entendemos cómo ocurre. Dado que no es posible obtener lentes de jóvenes con aniridia a medida que se desarrollan cataratas, sabemos muy poco acerca de por qué las mutaciones de *PAX6* provocan cataratas de aparición temprana en personas con aniridia.

Sin embargo, sabemos que ratones con mutaciones de *PAX6* que son similares a las de los humanos con aniridia, también desarrollan cataratas de aparición temprana. La Dra. Duncan describió el trabajo de su laboratorio en estos ratones para comprender por qué las mutaciones de *PAX6* les provocan cataratas, lo que proporcionará una idea de por qué los humanos necesitan dos copias funcionales del gen *PAX6* para mantener la salud del cristalino.²¹

Conclusión clave

La cantidad correcta de *PAX6* es esencial para el mantenimiento de las lentes. Cuando no se dispone de la cantidad adecuada de *PAX6*, las células del cristalino actúan como si estuvieran crónicamente heridas. Esto sensibiliza el resto del ojo para formar tejido cicatricial, incluso partes del ojo que no necesitan directamente *PAX6* para sus funciones.

Puntos de discusión adicionales

- El tamaño del cristalino en personas con aniridia es más pequeño que en aquellas sin aniridia, lo que concuerda con lo que se observa en ratones, ratas, ranas y peces cebra.

22



Melinda Duncan investiga la curación de heridas oculares, particularmente en relación con cómo responde el ojo a las cirugías y cómo se forman las cataratas. Es una de las principales investigadoras del síndrome de fibrosis anirídica.

²¹Voskresenskaya, A., Pozdeyeva, N., Batkov, Y., Vasilyeva, T., Marakhonov, A., West, R. A., Caplan, J. L., Cvekl, A., Wang, Y., & Duncan, M. K. (2021). Morphometric analysis of the lens in human aniridia and mouse Small eye. *Experimental eye research*, 203, 108371. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108371>.

²² Duncan, M. K., Daruich, A., Valleix, S., & Bremond-Gignac, D. (2024). Reduction of lens size in *PAX6*-related aniridia. *Experimental eye research*, 238, 1097-46. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2023.1097-46>

- Existe una respuesta inflamatoria significativa creada por las propias células del cristalino.
- Las fibras del cristalino producidas en la edad adulta en la aniridia muestran defectos en la producción de proteínas, lo que conduce a cataratas.

Kelly Trout (*Asociación Internacional del Síndrome WAGR y Aniridia Norteamérica, EE. UU.*)

La aniridia es una enfermedad genética rara, con una incidencia de aproximadamente 1 de cada 40,000 a 100,000 personas y, por lo tanto, es difícil de estudiar para médicos y científicos. Kelly Trout habló sobre la importancia de crear una base de datos de pacientes con aniridia. Aniridia Norteamérica ha creado esta base de datos, denominada *Registro EYERis Aniridia*, y lo lanzará en el 2024.

Desarrollar una base de datos de pacientes con aniridia y las complicaciones que experimentan puede ayudar a proporcionar a los investigadores información valiosa y ayudar a los médicos a comprender y tratar mejor estas afecciones. El Registro incluirá información como la edad del paciente, su historial médico, e incluso resultados de pruebas genéticas.

Algunas cosas positivas sobre el desarrollo de este Registro incluyen:

- Ayuda a la ciencia: proporciona a los científicos acceso estandarizado a conjuntos de información y datos a estudiar. Los científicos pueden buscar patrones y aprender más sobre las causas de la aniridia y cómo tratarla. También pueden ver cómo las condiciones asociadas con la aniridia cambian con el tiempo.
- Mejor atención: al saber más sobre la aniridia, los médicos pueden brindar una atención más individualizada al paciente y, con suerte, mejorar la calidad de vida.
- Trabajo en grupo: cuando se comparte el conocimiento, es más fácil encontrar respuestas. Los científicos, médicos y pacientes con aniridia pueden trabajar juntos y compartir lo que saben.



Kelly Trout (izquierda), con John Morris (presidente de la junta directiva de IWSA) y Shari Krantz (directora ejecutiva de IWSA y secretaria de ANA), es miembro fundador de ANA y de IWSA. Es la Directora de Investigación y Defensa Médica de IWSA y dirigió el equipo que desarrolló el Registro de Pacientes con Síndrome WAGR.

Puntos para pacientes

- La participación en el Registro de Pacientes con Aniridia EYERis será gratuita y consistirá en llenar un cuestionario.
- Participar en el Registro EYERis es una forma de contribuir directamente a la investigación de la aniridia para los pacientes.
- En una enfermedad rara, ¡la información de cada persona es importante!

- Nuevos Medicamentos y Terapias: Las empresas que desarrollan nuevas terapias y producen medicamentos pueden acceder al Registro para identificar pacientes que puedan estar interesados en nuevos tratamientos, acelerando así su desarrollo y aplicaciones.

Los investigadores, médicos y pacientes de aniridia y sus familiares podrán todos participar en el *Registro de pacientes con aniridia EYERis*. Trabajando juntos, podemos aprender más sobre la aniridia y mejorar la vida de quienes la padecen.

Conclusión clave

Durante En la última década, los registros de enfermedades raras han experimentado una transformación significativa. Con el fin de crear un registro de aniridia que cumpla con las prácticas actuales, incluyendo preguntas estandarizadas, Aniridia North America lanzará el *Registro de Pacientes con Aniridia EYERis* en el 2024.

Punto de discusión adicional

La Asociación Internacional del Síndrome WAGR creó y lanzó un registro similar al *Registro de Aniridia EYERis* en 2015. La investigación realizada utilizando datos del *Registro de pacientes con síndrome de WAGR* dio como resultado las primeras pautas de atención clínica para el síndrome WAGR, un cambio de nombre de síndrome WAGR a trastorno del espectro WAGR y documentación de afecciones que la comunidad médica anteriormente no asociaba con el síndrome WAGR.²³ El conocimiento y la experiencia adquiridos en el diseño y la implementación del registro WAGR se aplicaron para crear el *Registro de Aniridia EYERis*, que se lanzará en el 2024.

Jim Lauderdale (Universidad de Georgia, EE.UU.)

Mientras John Freeman cubrió el tema de la QRA a nivel de atención clínica y Ali Djalilian cubrió la QRA a nivel de investigación clínica y preclínica, el Dr. Lauderdale presentó información aprendida en su laboratorio a partir de investigaciones básicas y traslacionales sobre la córnea y las células madre del limbo (células madre que forman el límite entre la córnea y la esclerótica) y la QRA.



Jim Lauderdale (izquierda) es miembro de la Junta Directiva de ANA y coorganizador de este Simposio. Investiga los genes y las vías que controlan cómo se forma el ojo y cómo se procesa la información visual en el cerebro. Ha pasado gran parte de su carrera estudiando la aniridia y el gen PAX6.

²³ Duffy, K. A., Trout, K. L., Gunckle, J.M., Krantz, S. M., Morris, J., & Kalish, J.M. (2021). Results From the WAGR Syndrome Patient Registry: Characterization of WAGR Spectrum and Recommendations for Care Management. *Frontiers in pediatrics*,9, 733018. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.733018>

El desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos para la QRA se ve favorecido por una mejor comprensión de los cambios en la córnea y por qué ocurren estos cambios en pacientes con aniridia.²⁴ Se espera que la investigación que utiliza diferentes enfoques (incluidos modelos animales, nuevas tecnologías para trabajar con células humanas y tecnologías avanzadas para catalogar todos los genes expresados en células individuales) proporcione una comprensión que conduzca a nuevas terapias para tratar o prevenir la QRA.

Conclusión clave

Durante mucho tiempo se pensó que el principal impulsor de la QRA era la deficiencia de células madre limbales (DCML); sin embargo, la hipótesis de la DCML no puede explicar los cambios en la córnea que ocurren mientras la superficie ocular y el limbo parecen ser en su mayoría normales. Investigaciones recientes sugieren que hay otros factores importantes en juego. Es necesario identificar las vías y los mecanismos implicados en la QRA para desarrollar nuevas terapias.

Puntos de discusión adicionales

- Hay evidencia de un cambio en el entorno de señalización (la red de células, vías y procesos que permiten la visión) de la córnea anirídica del ratón que precede a los signos clínicos de queratopatía.
- En el modelo del ratón anirídico, hay un reordenamiento y una pérdida parcial de los nervios en la córnea anirídica que precede a la queratopatía.
- En el modelo del ratón anirídico, los vasos sanguíneos se retienen en el estroma (la capa media de la córnea) y aumentan en número simultáneamente con la queratopatía.
- Tanto en ratones como en humanos, hay evidencia de una respuesta inflamatoria en la córnea que precede a la QRA.

²⁴ Lagali, N., Wowra, B., Fries, F. N., Latta, L., Moslemani, K., Utheim, T. P., Wylegala, E., Seitz, B., & Kasmann-Kellner, B. (2020). Early phenotypic features of aniridia-associated keratopathy and association with PAX6 coding mutations. *The ocular surface*, 18(1), 130-140. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2019.11.002>

La función de PAX6

La mayoría de los casos de aniridia resultan de una mutación o delección en el gen *PAX6*, por lo que es esencial entender cómo *PAX6* funciona correctamente y lo que sucede cuando algo sale mal. Sin esta comprensión, es difícil crear tratamientos eficaces. Todas las presentaciones de esta sección se encuentran en la sección de Investigación científica básica del iceberg científico y, por lo tanto, son más técnicas.



David Price (izquierda) es un neurobiólogo cuya investigación se centra en cómo se desarrolla el cerebro y, específicamente, en el papel crucial que desempeña PAX6 en el desarrollo del cerebro. Aquí aparece con su colega científico Justin Kumar (derecha).

David Price (Universidad de Edimburgo, Reino Unido)

El desarrollo de un organismo es como una reacción en cadena muy complicada. La meticulosa coreografía de las complejas reacciones químicas involucradas en esta reacción en cadena es esencial para asegurar la generación de un organismo adulto exitoso.

Debido a esta complejidad, existe un riesgo muy real de que las variaciones fortuitas descarrilen el desarrollo a menos que existan mecanismos para evitar que esto suceda. Se sabe que el gen *PAX6* se expresa en gran medida en la corteza del cerebro humano en desarrollo. La investigación del Dr. Price buscó descubrir exactamente qué *PAX6* hace en el desarrollo cortical, y descubrió que *PAX6* desempeña un papel protector en la corteza cerebral embrionaria de los mamíferos, incluyendo los humanos.²⁵

Cuando *PAX6* se eliminó por completo de las células corticales cerebrales de ratones y humanos en desarrollo que normalmente lo contienen, algunas de ellas comenzaron a convertirse en células nerviosas del tipo incorrecto. Sin embargo, no todas las células se convirtieron en el tipo incorrecto, lo que fue un resultado interesante. Tras una mayor investigación, los resultados parecieron indicar que todas las células de las que *PAX6* fue eliminado corrían el riesgo de salir mal, pero el riesgo sólo se hizo realidad para aquellas cuyo

²⁵ Manuel, M., Tan, K. B., Kozic, Z., Molinek, M., Marcos, T. S., Razak, M. F. A., Dobolyi, D., Dobie, R., Henderson, B. E. P., Henderson, N. C., Chan, W. K., Daw, M. I., Mason, J. O., & Price, D. J. (2022). Pax6 limits the competence of developing cerebral cortical cells to respond to inductive intercellular signals. *PLoS biology*, 20(9), e3001563. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001563>

entorno inmediato contenía suficiente morfógenos (ciertas moléculas que dirigen las decisiones sobre el destino celular durante el desarrollo embrionario).

Conclusión clave

La corteza cerebral del cerebro humano desempeña un papel clave en la memoria, el pensamiento, el aprendizaje, el razonamiento, la resolución de problemas, las emociones, la conciencia y las funciones relacionadas con los sentidos. Un adecuado equilibrio entre las neuronas inhibitorias y excitadoras es fundamental para llevar a cabo sus funciones. La investigación del Dr. Price parece mostrar que *PAX6* reduce el riesgo de que las células cerebrales tempranas produzcan el tipo incorrecto de células nerviosas (inhibitorias) en lugar del tipo correcto (excitadoras), teniendo así un efecto protector.

Puntos de discusión adicionales

- No sabemos si este efecto protector se pierde si sólo se afecta una copia de *PAX6*, como en la aniridia.
- En la literatura científica, el equilibrio entre excitación e inhibición a menudo se considera un factor potencialmente importante que subyace a una variedad de condiciones neurodivergentes.^{26 27} Sin embargo, se necesita investigación adicional para hacer predicciones firmes sobre cómo estos hallazgos impactan funcionalmente a los pacientes con aniridia.
- Hipotéticamente, estos hallazgos pueden ayudar a explicar la variación en los efectos observados entre personas con la misma mutación de *PAX6*. Esta investigación preliminar debe interpretarse con cautela.



Ales Cvekl es un destacado experto en el desarrollo del cristalino del ojo. Ha estado investigando *PAX6* y el desarrollo de lentes durante más de 30 años.

Ales Cvekl (Facultad de Medicina Albert Einstein, EE. UU.)

Como se analizó en la presentación de Melinda Duncan, las anomalías del cristalino, incluidas las

²⁶ Uzunova, G., Pallanti, S., & Hollander, E. (2016). Excitatory/inhibitory imbalance in autism spectrum disorders: Implications for interventions and therapeutics. *The world journal of biological psychiatry: the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 17(3), 174-186. <https://doi.org/10.3109/15622975.2015.1085597>

²⁷ Richter, M.A., de Jesus, D. R., Hoppenbrouwers, S., Daigle, M., Deluce, J., Ravindran, L. N., Fitzgerald, P. B., & Daskalakis, Z. J. (2012). Evidence for cortical inhibitory and excitatory dysfunction in obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(5), 1144-1151. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.300>

cataratas, se encuentran en pacientes con aniridia. Durante la última década, el laboratorio del Dr. Cvekl fue pionero en la generación de lentes primitivos y retinas enriquecidas con conos utilizando células madre. Estos pueden usarse para modelar enfermedades oculares humanas como la aniridia.

Para aprovechar estos sistemas a la máxima potencia, se implementaron múltiples métodos imparciales de última generación para analizar partes de tejidos oculares individuales utilizando modelos humanos y de ratón.²⁸ Estos métodos permitieron nuevos análisis de las primeras etapas de formación del cristalino.²⁹ También permiten que el laboratorio del Dr. Cvekl investigue sistemáticamente los efectos de las mutaciones diferentes del gen *PAX6* para identificar los mecanismos moleculares precisos de las proteínas *PAX6* normales y mutadas.³⁰ Esta investigación facilitará el camino a terapias individuales aplicando el concepto de medicina personalizada.

Conclusión clave

Hemos aprendido mucho sobre *PAX6* durante más de 32 años transcurridos desde su descubrimiento. Sin embargo, todavía queda mucho más por aprender. El laboratorio del Dr. Cvekl está trabajando para comprender cómo *PAX6* controla cada etapa del desarrollo de lentes y, en el proceso, ha creado múltiples herramientas nuevas que otros pueden usar para impulsar la investigación. Es de esperar que todos estos factores conduzcan a mejores terapias individuales en el futuro.

Puntos de discusión adicionales

- El gen *PAX6* es un factor de transcripción, lo que significa que ayuda a determinar si otros genes están “activados” o “desactivados”.
- Si bien hay alrededor de 1600 factores de transcripción en el cuerpo, sólo unos 12 de ellos desempeñan un papel tan importante como el de *PAX6*. *PAX6* es un gen muy importante en el cuerpo.

Justin Kumar (Universidad de Indiana, EE.UU.)

El factor de transcripción *PAX6* es necesario en todos los animales videntes que han sido examinados hasta la fecha y, a menudo, se considera el “gen de control maestro” del desarrollo ocular. El ojo compuesto de la mosca de la fruta (*Drosophila*) proporciona un modelo excelente para estudiar los procesos necesarios para el desarrollo del ojo. En *Drosophila*, hay dos genes *PAX6* genes, llamados “Sin ojos” y “gemelo de sin ojos”, que controlan el desarrollo del ojo.

²⁸ Cvekl, A. (2024), Multi - omics studies of eye and lens development. Acta Ophthalmol, 102:.
<https://doi.org/10.1111/aos.16484>

²⁹ Cecilia G. De Magalhães, Ales Cvekl, Ruy G. Jaeger, CY Irene Yan, bioRxiv 2023.11.30.569417; doi:
<https://doi.org/10.1101/2023.11.30.569417>

³⁰ Camerino M, Chang W, Cvekl A. Analysis of long-range chromatin contacts, compartments and looping between mouse embryonic stem cells, lens epithelium and lens fibers. Epigenetics Chromatin. 2024 Apr 20;17(1):10. doi: 10.1186/s13072-024-00533-x. PMID: 38643244; PMCID: PMC11031936.

Se ha demostrado que *PAX6* es parte integral de la “red de determinación de la retina”, que es la red de genes responsables del desarrollo de la retina.³¹ Sin embargo, a pesar del intenso interés en este tema, mucho de lo que *PAX6* hace durante el desarrollo de la retina no ha sido descubierto.



La presentación del Dr. Kumar discutió las nuevas funciones de *PAX6* en el desarrollo ocular que su laboratorio ha descubierto recientemente, utilizando a *Drosophila* (mosca de la fruta) como modelo de investigación.

Conclusión clave

PAX6 actúa en un papel "oficial" durante el desarrollo del ojo. Debemos pensar que *PAX6* es como un árbitro que se asegura de que todos los que juegan sigan las reglas. Cuando muta, *PAX6* no puede officiar con tanta eficacia, razón por la cual surgen problemas.

Puntos de discusión adicionales

- Dado que *PAX6* es similar entre especies, cuando se toma de una especie puede sustituir funcionalmente su pérdida en otra. Por ejemplo, puedes tomar la versión de ratón de *PAX6*, colocarlo en una mosca de la fruta y obtener un ojo ectópico (un ojo que se desarrolla fuera de lugar o en una posición inusual).
- Una nueva función descubierta en el *PAX6* es su papel en el mantenimiento de la simetría del tamaño de los ojos a través del eje del cuerpo.
- Se ha descubierto potencialmente un nuevo gen que *PAX6* controla en el patrón del ojo durante el desarrollo.

Robert Grainger (Universidad de Virginia, EE.UU)

No se comprende bien cómo se produce la determinación de las células durante el desarrollo de un embrión. Sin embargo, el ojo de la rana, *Xenopus Tropicalis*, es útil para estudiar este proceso debido a su accesibilidad en la superficie del embrión.

La presentación del Dr. Grainger compartió cómo su laboratorio ha investigado esta formación del cristalino y la retina utilizando tecnología nueva y altamente sensible. Esta nueva tecnología, llamada secuenciación de ARN unicelular, se ha utilizado para observar actividades

³¹ Kumar JP. Retinal determination the beginning of eye development. *Curr Top Dev Biol.* 2010;93:1-28. doi: 10.1016/B978-0-12-385044-7.00001-1. PMID: 20959161; PMCID: PMC5830122.

genéticas específicas a nivel de células individuales.

Las ranas anirídicas están disponibles con un fenotipo muy similar al de los humanos con aniridia. Utilizando esta nueva tecnología en estas ranas, el Grainger Lab está estudiando los cambios asociados con la aniridia en todos los tejidos del ojo (cristalino, retina, córnea e iris) con un poder de resolución sin precedentes, lo que les permite reconocer cambios genéticos previamente no identificables. asociado con aniridia.

Conclusión clave

Estudios recientes revelaron que falta la expresión de aproximadamente entre 30 y 40 genes de respuesta temprana en la rana anirídica. Estos genes son esenciales para el desarrollo del cristalino y están regulados por el *PAX6*.

Se están llevando a cabo investigaciones similares sobre genes de respuesta temprana en la retina y el cerebro, y están surgiendo hallazgos importantes.

Puntos de discusión adicionales

Como se discutió en otras presentaciones, *PAX6* es un gen regulador esencial y se transcribe de manera estable durante todo el desarrollo para preservar sus funciones importantes durante toda la vida. Esto se logra a través de un "bucle de retroalimentación" estable para mantener su expresión.

Nueva evidencia de los datos unicelulares indica que el circuito de retroalimentación del lente (cristalino) es "positivo", donde *PAX6* estimula su propia producción para mantener los niveles correctos. Por lo tanto, en el cristalino, si *PAX6* se elimina debido a una mutación, el nivel del gen disminuye gradualmente.

Sin embargo, resultados preliminares en la retina y el cerebro parecen indicar un circuito de retroalimentación "negativa", donde el *PAX6* previene su propia sobreproducción. Por lo tanto, en la retina y el cerebro, si el *PAX6* se elimina debido a una mutación, el nivel del gen aumenta gradualmente hasta niveles superiores a lo normal.

Estos datos sugieren que existe una diferencia fundamental en cómo *PAX6* actúa en diferentes



tejidos del embrión. Estas diferencias deben resolverse si queremos comprender cómo opera este asombroso gen.



Zbynek Kozmik es un biólogo molecular que investiga los genes necesarios para el desarrollo, como el PAX6. Ha publicado más de 175 artículos y utiliza todo un zoológico de animales para sus investigaciones, incluidos ratones, peces, gusanos anélidos y medusas.

Zbynek cósmico (*Academia Checa de Ciencias, República Checa*)

Está bien establecido por años de investigación científica que el PAX6 Representa un gen esencial para el desarrollo ocular en ratones y humanos. Otras presentaciones, como las de Justin Kumar, Rob Grainger y Ales Cvekl, discutieron algunas de las formas en que el PAX6 oficia y guía a otros genes para que hagan lo que se supone que deben hacer. Estos genes que el PAX6 regula se denominan “aguas abajo” de PAX6.

En su presentación, Zybnek Kozmik centró su atención en los genes que regulan al PAX6. Estos genes se denominan "aguas arriba" del PAX6. Históricamente, estaba claro que debía haber genes que actuaran antes del PAX6 para regular los procesos de desarrollo, pero no se había entendido bien cómo exactamente.

El laboratorio del Dr. Kozmik identificó dos genes redundantes, *Meis1* y *Meis2*, que son reguladores críticos del PAX6 y proporcionó evidencia de su papel en el desarrollo del cristalino, la retina y el epitelio pigmentario de la retina. También realizaron pruebas genéticas de elementos seleccionados de la red reguladora del gen PAX6 para ver qué tan importantes son para la función genética del PAX6.

Conclusión clave

Al igual que el PAX6 es un árbitro que arbitra el desarrollo, también existen genes que regulan al PAX6. El laboratorio del Dr. Kozmik identificó recientemente dos de esos genes, *Meis1* y *Meis2*.³² Esta información, junto con el trabajo presentado por Ales Cvekl y Rob Grainger, proporcionó nuevos conocimientos importantes sobre cómo el PAX6 obra.

Timothy Blenkinsop (*Escuela de Medicina Icahn en el Monte Sinaí, EE.UU*)

En la mayoría de los casos de aniridia, la mutación en el PAX6 es una mutación con pérdida de función. Esto significa que la proteína PAX6 no se produce o no es funcional. Como resultado, el ojo no se desarrolla adecuadamente y el resultado es aniridia.

³² Dupacova, N., Antosova, B., Paces, J., & Kozmik, Z. (2021). Meis homeobox genes control progenitor competence in the retina. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(12), e2013136118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2013136118>

Las células madre son células que pueden convertirse en todos los tipos de células del cuerpo, habilitando a los científicos a estudiar cómo se desarrolla el cuerpo humano. Los científicos ahora pueden crear células madre con las mismas mutaciones que tienen los humanos, lo que les permite estudiar los mecanismos subyacentes de las enfermedades. Estos estudios proporcionan pistas sobre cómo mejorar los resultados de las enfermedades.

El Dr. Blenkinsop describió su trabajo utilizando células madre para desarrollar organoides oculares, que son cultivos de células que poseen características del ojo humano. Estos organoides fueron desarrollados para estudiar mutaciones que conducen a la aniridia.

Utilizando este enfoque, se modificó la especificación de las células del músculo del iris, lo que puede proporcionar información sobre la trayectoria de desarrollo alterada de los pacientes con aniridia.

Conclusión clave

Todavía tenemos lagunas en la comprensión de la aniridia, porque la gravedad de los síntomas es difícil de predecir basándose únicamente en la genética. La expresión clínica varía ampliamente dentro de cada paciente y familia, y los fenotipos sin sentido son difíciles de predecir. Para investigar esto más a fondo, el Dr. Blenkinsop propone crear un banco de células madre, donde las células madre sean proporcionadas por pacientes con aniridia. Este enfoque permitiría la creación de células madre que coincidan con la genética de un paciente específico, para determinar si pueden reproducir la gravedad de los síntomas del paciente.



Desarrollo ocular

A pesar de que el *PAX6* es absolutamente esencial para el desarrollo del ojo, existen muchos otros factores importantes que intervienen durante el desarrollo del ojo. Comprender el alcance completo del desarrollo ocular es vital para crear nuevos tratamientos clínicos. Todas las presentaciones de esta sección se encuentran en la sección de Investigación científica básica del iceberg científico y, por lo tanto, son altamente técnicas.



Veronica van Heyningen, que se muestra aquí en una presentación virtual, se le atribuye ampliamente el descubrimiento del gen *PAX6*. Una leyenda en el mundo de la genética, dedicó el trabajo de su vida a la comprensión de *PAX6* y la aniridia, y contribuyó enormemente a nuestra comprensión de la función de *PAX6*.

Verónica van Heyningen³³ (*University College de Londres, Reino Unido*)

La forma detallada en que las personas se desarrollan y funcionan desde la concepción hasta la muerte, influenciada por las acciones entrelazadas de la genética y el medio ambiente, se analiza con frecuencia. Menos frecuentemente se menciona que los sucesos aleatorios (estocásticos) o fortuitos también influyen en muchos eventos biológicos.

Las fluctuaciones aleatorias son parte de la mayoría de los sistemas biológicos y son necesarios para que se desencadenen algunos eventos clave.

Por ejemplo, en las primeras etapas del desarrollo partimos de una única célula fertilizada que luego se divide para producir muchas copias de sí misma. Sin embargo,

para hacer un ser complejo se requieren diferentes tipos de células para desarrollarse de manera ordenada. Quizás resulte sorprendente que este proceso se inicie mediante fluctuaciones aleatorias de los componentes celulares. De esta forma pueden surgir células capaces de cumplir diferentes funciones.

La forma en que los genes de los abuelos se transmiten a la siguiente generación también es un evento parcialmente aleatorio, por lo que los hermanos heredan diferentes combinaciones de características genéticas. Más adelante en el camino del desarrollo también surgen otras diferencias a través de eventos aleatorios. El Dr. van Heyningen analizó varias diferencias que surgen a través de eventos aleatorios, incluidas algunas que afectan el desarrollo del ojo.³⁴

“Es sorprendente que el desarrollo alguna vez funcione, no que a veces salga mal.”

- Veronica van Heyningen

³³ van Heyningen V. (2022). A Journey Through Genetics to Biology. *Annual review of genomics and human genetics*, 23, 1–27. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-010622-095109>

³⁴ van Heyningen V. (2024). Stochasticity in genetics and gene regulation. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 379(1900), 20230476. <https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0476>

Por ejemplo: la función de detección de luz roja, verde y azul de las células cónicas de la retina se asigna aleatoriamente, por lo que se forma un mosaico aleatorio de estos receptores. La forma en que se establecen las conexiones nerviosas desde la retina al cerebro en la primera infancia también es mediante activación neuronal aleatoria seguida de una selección de conexiones fuertes.

Conclusión clave

Los eventos aleatorios tienen un efecto significativo sobre los procesos biológicos y el desarrollo.



Seth Blackshaw (centro) con Ruth Ashery-Padan (izquierda) y Justin Kumar (derecha) es un destacado experto en el desarrollo de la retina y el hipotálamo. Ha estado estudiando el desarrollo de la retina durante más de 25 años, ha contribuido a más de 190 publicaciones y posee varias patentes y derechos de autor.

Seth Blackshaw (*Universidad Johns Hopkins, EE.UU.*)

El sistema nervioso central es increíblemente complejo. La retina es, en última instancia, un componente simplificado del sistema nervioso central. Por lo tanto, estudiar la retina es una excelente manera de descubrir cómo ocurre el desarrollo neuronal.

El Dr. Blackshaw presentó su trabajo relacionado con cómo se desarrollan las células de la retina, cómo se mantienen vivas y cómo pueden repararse o reemplazarse.

Conclusión clave

Utilizando la nueva tecnología de secuenciación de ARN unicelular en ratones, el laboratorio del Dr. Blackshaw ha podido determinar qué genes se

expresan, donde se expresan, y cuando se expresan en el desarrollo de la retina. Continúan aprendiendo más sobre la función específica de cada uno de estos genes.³⁵

Puntos de discusión adicionales

- El pez cebra tiene una capacidad asombrosa para regenerar las células de la retina

“La secuenciación de ARN unicelular ha tenido un efecto similar al que ha tenido el telescopio Hubble en la astronomía. En lugar de mirar manchas, miramos estrellas individuales.”

- Seth Blackshaw

³⁵ Zhang, X., Leavey, P., Appel, H., Makrides, N., & Blackshaw, S. (2023). Molecular mechanisms controlling vertebrate retinal patterning, neurogenesis, and cell fate specification. *Trends in genetics : TIG*, 39(10), 736–757. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.06.002>

después de una lesión.³⁶ Las aves y los mamíferos no tienen esta capacidad. El laboratorio del Dr. Blackshaw está estudiando esta notable capacidad para aprender cómo hacer que funcione la regeneración de la retina. Esta información es importante al pensar en cómo reparar una retina dañada.

- Los ratones no ven muy bien los colores debido a que tienen muchos más bastones que conos en la retina y, por lo tanto, son un sistema deficiente para estudiar la retina. Sin embargo, la ardilla terrestre de 13 líneas tiene una gran cantidad de conos con respecto a los bastones y, por lo tanto, es un mejor modelo animal para estudiar la retina.

Nadean Brown (*Universidad de California Davis, EE.UU*)

Como se discutió en otras presentaciones, la comprensión es incompleta con respecto a qué inicia, mantiene y cierra los procesos biológicos involucrados en el desarrollo ocular. Aunque para este proceso se requieren factores de transcripción como *PAX6*, las vías de señalización celular también son fundamentales para la formación temprana del ojo.

Las vías de señalización celular son redes que permiten a las células detectar y responder a sus señales ambientales. La Dra. Brown presentó nuevos datos de un estudio sobre la importante vía de señalización conocida como Erizo Sonic.

Conclusión clave

Los datos presentados proporcionaron un "¡ah, ja!" momento para otros científicos con respecto a cómo se comunican las células durante las primeras etapas del desarrollo ocular. Ampliando el trabajo anterior realizado por Seth Blackshaw y otros, el trabajo de la Dra. Brown proporciona nuevos conocimientos importantes sobre cómo regenerar o reparar la retina en el futuro.



Nadean Brown (derecha), en la foto con Tom Glaser, investiga las vías genéticas que subyacen a la formación de los ojos de los mamíferos. Esta investigación contribuirá a una mejor comprensión de las enfermedades oculares congénitas y, en última instancia, informará las terapias con células madre para corregir la pérdida de visión.

³⁶ Lyu, P., Iribarne, M., Serjanov, D., Zhai, Y., Hoang, T., Campbell, L. J., Boyd, P., Palazzo, I., Nagashima, M., Silva, N. J., Hltchcock, P. F., Qian, J., Hyde, D. R., & Blackshaw, S. (2023). Common and divergent gene regulatory networks control injury-induced and developmental neurogenesis in zebrafish retina. *bioRxiv : the preprint server for biology*, 2023.08.08.552451. <https://doi.org/10.1101/2023.08.08.552451>

Ruth Ashery-Padan (*Universidad de Tel Aviv, Israel*)

Cuando un bebé crece dentro de su madre, ciertas proteínas, como la PAX6, trabajan juntas para ayudar a que diferentes partes de su cuerpo se desarrollen adecuadamente. El laboratorio de la Dra. Ashery-Padan está tratando de descubrir estos grupos especiales de proteínas, su papel en la causa de enfermedades y la forma en que estas proteínas mantienen la función de los tejidos durante toda la vida. Su investigación se centra en las células del ojo llamadas epitelio pigmentado de la retina (EPR). Estas células son importantes para una buena visión y pueden verse afectadas por muchos problemas oculares.

Para observar de cerca cómo se activan y desactivan los genes en el EPR, crearon un modelo celular para estudiar el desarrollo del EPR humano y modelar enfermedades retinianas humanas hereditarias. En el proceso, identificaron nuevos genes que desempeñan un papel en el EPR humano y también vincularon estos genes recién identificados con la genética de la degeneración macular relacionada con la edad.

Conclusión clave

Este estudio ejemplifica cómo el estudio de estas proteínas y sus efectos sobre los genes puede ayudarnos a comprender y tratar enfermedades genéticas del ojo.



Ruth Ashery-Padan investiga las redes genéticas necesarias para el desarrollo ocular. Ha publicado alrededor de 80 artículos durante una carrera investigadora que se ha extendido por casi 30 años.

Trastornos oculares generales

Es importante comprender e investigar los trastornos oculares en general para ayudar a resolver el enigma de la aniridia. Con frecuencia, la información aprendida en la investigación de otros trastornos oculares se puede aplicar para crear nuevos tratamientos para la aniridia. Esta presentación pertenece a la sección de Investigación Preclínica del iceberg científico.



Brian Brooks es director clínico del Instituto Nacional del Ojo en los Institutos Nacionales de Salud de Maryland. Supervisa la investigación clínica y la atención al paciente. Sus intereses de investigación se centran en las enfermedades oculares hereditarias que afectan a los niños.

Brian Brooks (*Instituto Nacional del Ojo, Institutos Nacionales de Salud, EE.UU.*)

El coloboma es un síndrome de malformación ocular congénita que, al igual que la aniridia, puede provocar una pérdida grave de visión en los niños. A diferencia de la aniridia, tiene muchas causas genéticas, muchas de las cuales aún no se han identificado. Incluso cuando entendemos la genética, los mecanismos de las enfermedades (y por lo tanto los medios para prevenirlas) no se comprenden bien.

Una forma humana poco común de coloboma sindrómico es el síndrome RERE, también conocido como síndrome NEDBEH (trastorno del desarrollo neurológico con o sin anomalías del cerebro, los ojos o el corazón). El Dr. Brooks describió su trabajo que implicó un análisis detallado de un modelo de pez con síndrome NEDBEH, demostrando que

tiene coloboma acompañado por un curioso crecimiento excesivo del nervio óptico temprano.

Continuó demostrando que estas anomalías están mediadas por una vía de señalización del desarrollo bien conocida, Sonic Hedgehog (SHH), y que pueden rescatar parcialmente estas anomalías utilizando un fármaco que inhibe la SHH. Creemos que estos hallazgos arrojan luz sobre la patogénesis de la enfermedad en personas con síndrome de NEDBEH.³⁷

Conclusión clave

Se probó, con cierto éxito, una cura parcial para un tipo raro de coloboma sindrómico en el pez cebra. Esto puede ayudarnos a comprender cómo se desarrolla esta rara enfermedad y cómo algún día podrá tratarse.

³⁷ George, A., Lee, J., Liu, J., Kim, S., & Brooks, B. P. (2023). Zebrafish model of RERE syndrome recapitulates key ophthalmic defects that are rescued by small molecule inhibitor of shh signaling. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*, 252(4), 495–509. <https://doi.org/10.1002/dvdy.561>

Modelos de investigación

Los modelos de investigación son herramientas esenciales para que los científicos investiguen cómo funcionan los seres vivos, comprendan las enfermedades y desarrollen nuevos tratamientos. Estos pueden incluir modelos animales y modelos creados en una placa de Petri, conocidos como modelos “in vitro”. Los modelos animales comunes en la aniridia incluyen ratones, ranas y peces cebras, aunque se están explorando otros modelos. Los científicos eligen el modelo que mejor funciona para su área particular de estudio.



Elizabeth Simpson (en la foto con Ruth Ashery-Padan) tiene como objetivo general de investigación desarrollar terapias basadas en genes para los trastornos del cerebro y los ojos. Su objetivo a corto plazo es curar el modelo de aniridia en ratones para sentar las bases sobre las cuales se pueda diseñar la terapia genética humana para la aniridia.

Elizabeth Simpson (Universidad de Columbia Británica, Canadá)

Como se analizó en las presentaciones de John Freeman, Ali Djallilian y Jim Lauderdale, no existe una terapia confiable a largo plazo para salvar la visión en la aniridia. Un enfoque potencial interesante es utilizar CRISPR para corregir permanentemente las variantes en el *PAX6* gen que causa la aniridia.

CRISPR es como unas tijeras moleculares capaces de cortar y reemplazar la variante no deseada. Elizabeth Simpson presentó dos estudios relacionados con su búsqueda para desarrollar una terapia genética que pudiera curar el modelo de aniridia en ratones.^{38 39}

Hay muchos tipos diferentes de “tijeras” o enzimas CRISPR. El primer estudio que presentó implicó determinar cuál es la mejor enzima CRISPR a utilizar.

Para probar la mejor enzima CRISPR, el laboratorio del Dr. Simpson desarrolló primero un nuevo modelo de ratón y nuevas líneas celulares. Para ello, introdujeron ADN humano en el modelo de ratón y en las líneas de células madre. Esta humanización facilita la traducción de las terapias desarrolladas a los humanos en el futuro. Luego probaron cinco enzimas diferentes en estas líneas celulares humanizadas y en ratones. Descubrieron que una enzima arreglaría el cromosoma variante en aproximadamente el 75% de las líneas celulares de ratón sin estropear

³⁸Mirjalili Mohanna, S. Z., Hickmott, J. W., Lam, S. L., Chiu, N. Y., Lengyell, T. C., Tam, B. M., Moritz, O. L., & Simpson, E. M. (2020). Germline CRISPR/Cas9-Mediated Gene Editing Prevents Vision Loss in a Novel Mouse Model of Aniridia. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, 17, 478–490. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.03.002>

³⁹ Adair, B. A., Korecki, A. J., Djaskigulova, D., Wagner, P. K., Chiu, N. Y., Lam, S. L., Lengyell, T. C., Leavitt, B. R., & Simpson, E. M. (2023). ABE8e Corrects Pax6-Aniridic Variant in Humanized Mouse ESCs and via LNPs in Ex Vivo Cortical Neurons. *Ophthalmology and therapy*, 12(4), 2049–2068. <https://doi.org/10.1007/s40123-023-00729-6>

el cromosoma no variante.

Ahora que habían identificado una buena enzima para usar, necesitaban determinar el mejor método de administración. Probaron cinco métodos de inyección y dos materiales de administración. Descubrieron que un método de inyección particular (llamado “inyección intraestromal”) combinado con un material de administración específico (llamado “virus adenoasociados recombinantes” o rAAV) proporcionaba una administración generalizada a las tres capas de la córnea. También pudieron demostrar que este método de administración funcionó en la córnea de ratón anirídico adulto.⁴⁰

Conclusión clave

Se han creado nuevos modelos de ratón y líneas de células madre, que ayudaron a determinar la mejor enzima, método de inyección y material de administración a utilizar en una estrategia basada en CRISPR para curar la queratopatía relacionada con la aniridia (QRA).

Puntos de discusión adicionales

- Además de humanizar el ADN del ratón, han creado un modelo de ratón donde la queratopatía se desarrolla más lentamente que en los humanos.
- Todavía queda mucho por hacer en biología para determinar qué tan efectivos serán los resultados y cuánto tiempo podrían durar.

Andres Wegerski (*Instituto Nacional del Ojo, Institutos Nacionales de Salud, EE. UU.*)

Las enfermedades maculares son la principal causa de ceguera en los estadounidenses mayores de 60 años y representan una carga sanitaria importante en todo el mundo. Si bien la degeneración macular relacionada con la edad es el ejemplo más común de enfermedad macular, existen numerosos trastornos genéticos, en particular el albinismo y la aniridia, que afectan de manera similar la visión desde las primeras etapas del desarrollo. Mutaciones que afectan a genes específicos (*TYR* y *PAX6*) asociados con estos trastornos a menudo producen hipoplasia foveal, una pérdida irreversible de la visión central en la que un área especializada de la retina, la fovea, no logra desarrollarse completamente. Esta región aparece como un hoyo retiniano y es responsable de la visión de colores de alta agudeza.

Un desafío importante para estudiar los trastornos maculares y foveales es que los modelos animales comúnmente disponibles, como el pez cebra, los polluelos y los ratones, no tienen foveas. Los pocos modelos animales que sí tienen fovea, como los monos o los pájaros, requieren mucho espacio y recursos y son difíciles de reproducir en grandes volúmenes en un laboratorio. Sin embargo, ciertos reptiles como los geckos diurnos tienen retinas foveadas parecidas a las humanas y muchos rasgos deseables para modelar los trastornos de la retina.

⁴⁰ Mirjalili Mohanna, S. Z., Korecki, A. J., & Simpson, E. M. (2023). rAAV-PHP.B escapes the mouse eye and causes lethality whereas rAAV9 can transduce aniridic corneal limbal stem cells without lethality. *Gene therapy*, 30(9), 670–684. <https://doi.org/10.1038/s41434-023-00400-6>



Andrew Wegerski es un becario predoctoral que trabaja en el laboratorio de Brian Brooks en el Instituto Nacional del Ojo. Como acuarista y herpetólogo experimentado, es un experto en la cría y mantenimiento de diversos peces, invertebrados y reptiles para las industrias de biotecnología y acuarios. Trabajar con investigadores de genética y ciencias de la visión en el NEI le permite utilizar su conocimiento sobre reptiles y peces para estudiar la visión.

Wegerski presentó su trabajo utilizando estos geckos como sistema modelo para comprender las raíces genéticas del desarrollo foveal. Está estudiando cómo crece la fovea del gecko, comparándola con cómo se desarrolla la fovea humana y descubriendo si utilizan los mismos genes y vías. Si lo hacen, utilizará CRISPR para intentar cambiar esos genes en los geckos y ver si es posible detener la formación de sus foveas.

Conclusión clave

Dado que los geckos tienen una fovea similar a la de los humanos, se utilizan geckos como nuevos modelos animales proporcionar una base durante el desarrollo embrionario en la que estudiar el desarrollo de la fovea. También proporcionará nuevos conocimientos clínicos sobre trastornos oculares genéticos raros como la aniridia, que son difíciles de estudiar en modelos animales tradicionales.

Puntos de discusión adicionales

- Este trabajo se basa en el trabajo de Ashley Rasys con el lagarto anole pardo y las exitosas técnicas quirúrgicas que utilizan CRISPR que se utilizaron para crear el primer lagarto modificado genéticamente.
- Varios investigadores se ofrecieron a compartir

información y técnicas con Andrew, lo que ilustra cómo la colaboración puede ayudar a impulsar la investigación.

Ashley Rasys (*Instituto Nacional del Ojo, Institutos Nacionales de Salud, EE. UU.*)

Como comentó Andrew Wegerski, un área actual que falta en el campo de la oftalmología y la investigación de la visión es un modelo animal preclínico sólido para ayudar en el desarrollo de tratamientos novedosos para personas con trastornos foveales y maculares del ojo, como la aniridia.

Un vertebrado atractivo para desarrollar como modelo animal foveado es el *Anolis sagrei* lagarto, que en realidad tiene dos foveas. Este lagarto tiene una fosa central y una temporal en la retina. Esta especie también tiene un tiempo de desarrollo corto, se reproduce en grandes cantidades, su genoma ha sido



Ashley Rasys es becaria postdoctoral que trabaja en el Instituto Nacional del Ojo. Anteriormente trabajó en el laboratorio de Jim Lauderdale en la Universidad de Georgia, donde participó en la creación del primer lagarto modificado genéticamente.

secuenciado y es susceptible a tecnologías de edición genética.⁴¹ En conjunto, estos atributos los convierten en un modelo interesante para probar rápidamente vías potenciales involucradas en la formación de la fovea e implementar estrategias terapéuticas novedosas en lagartos diseñados.

La Dra. Rasys presentó formas adicionales en las que los investigadores clínicos pueden utilizar los lagartos. En particular, destacó cómo la cáscara permeable del huevo del anole permite la transferencia pasiva de fármacos a los embriones en desarrollo. Su trabajo preliminar que prueba el fármaco propiltiouracilo (PTU) demuestra la utilidad de este enfoque para identificar períodos críticos en el desarrollo de la fovea, señala los momentos ideales para implementar tratamientos para rescatar fenotipos mutantes e ilustra el impacto potencial que los lagartos pueden proporcionar como modelo animal preclínico para avanzar la investigación.

Conclusión clave

El anole pardo se está convirtiendo en un excelente modelo animal preclínico para estudiar el desarrollo de la fovea. El trabajo de la Dra. Rasys destaca la capacidad de modificar genéticamente estos lagartos, así como identificar los tiempos de tratamiento ideales para prevenir la hipoplasia foveal.



Marta Grannonico es becaria postdoctoral en el laboratorio de Xiaorong Liu. Recientemente recibió una subvención para investigar problemas de desarrollo de la retina en la aniridia, con el objetivo de descubrir nuevos marcadores de enfermedades de la retina. Este trabajo tendrá un profundo impacto en el tratamiento de la aniridia y las enfermedades oculares pediátricas en general.

Marta Grannonico (Universidad de Virginia, EE.UU.)

La tomografía de coherencia óptica (TCO) es un tipo de imagen médica comúnmente utilizada para diagnosticar daño retiniano en una variedad de enfermedades oculares. La Dra. Grannonico analizó un nuevo método de obtención de imágenes, la fibrografía por tomografía de coherencia óptica con luz visible (llamada “vis-FTCO”), que proporciona imágenes de la retina más claras y detalladas en comparación con los sistemas TCO estándar de infrarrojo cercano (IRC) que están disponibles comercialmente.

El sistema vis-FTCO se probó por primera vez en ratones. Sin embargo, los modelos de ratón tienen limitaciones porque los ojos de los ratones son diferentes a los ojos humanos. Para superar estas limitaciones, se exploraron las musarañas arbóreas como un nuevo modelo animal. Las musarañas arbóreas son pequeños mamíferos con ojos que se parecen mucho a los ojos humanos en muchos aspectos. Luego, el

laboratorio del Dr. Liu comparó las estructuras de la retina en ratones y musarañas utilizando imágenes de animales vivos y muestras preservadas. Esta comparación proporcionó

⁴¹ Geneva, A. J., Park, S., Bock, D. G., de Mello, P. L. H., Sarigol, F., Tollis, M., Donihue, C. M., Reynolds, R. G., Feiner, N., Rasys, A. M., Lauderdale, J. D., Minchey, S. G., Alcalá, A. J., Infante, C. R., Kolbe, J. J., Schluter, D., Menke, D. B., & Losos, J. B. (2022). Chromosome-scale genome assembly of the brown anole (*Anolis sagrei*), an emerging model species. *Communications biology*, 5(1), 1126. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04074-5>

conocimientos esenciales y sentó las bases para utilizar las musarañas como modelo para estudiar las enfermedades de la retina.

Finalmente, compararon directamente el rendimiento del nuevo vis-FTCO con el estándar IRC-TCO tomando imágenes de los mismos pacientes utilizando ambas técnicas. La comparación reveló que la vis-FTCO puede generar imágenes de alta resolución, permitiendo una caracterización precisa de las estructuras de la retina. Este avance es muy prometedor para mejorar el diagnóstico de daño retiniano en diferentes enfermedades oculares.

Conclusión clave

Una nueva herramienta de imágenes, llamada vis-FTCO, proporciona imágenes de la retina con mayor resolución que nunca. Esta tecnología se está desarrollando para uso clínico en un ensayo multicéntrico para permitir mejores imágenes de los ojos de los pacientes.

Agradecimientos

Como resultado de este simposio, los investigadores obtuvieron colectivamente una nueva visión de cómo el *PAX6* y los genes oculares relacionados funcionan. Este nuevo conocimiento encamina la investigación hacia el desarrollo de nuevos enfoques clínicos que funcionen para la aniridia.

ANA agradece a los profesionales que asistieron al Simposio y presentaron sus hallazgos, así como a los representantes de los pacientes que brindaron información valiosa durante la reunión.



Sentada, de izquierda a derecha: Susan Wolfe, Shari Krantz, Suzanne Chinn, Ruth Ashery-Padan, Nadean Brown, David Price, Grayson Chinn

Fila del medio, de izquierda a derecha: Robert Grainger, Marta Grannonico, Seth Blackshaw, Janey Wiggs, Justin Kumar, Melinda Duncan, Bobbi Schain, Michael Schain, Kelly Trout

De pie trasera, de izquierda a derecha: Arjun Dirghangi, James Lauderdale, John Morris, Janelle Collins, Ales Cvekl, Elena Semina, Elizabeth Simpson, Dominique Bremond-Gignac, Cheryl Gregory-Evans, Kevin Gregory-Evans, John Freeman, Peter Netland, Zbynek Kozmik, Matthew Wolfe, Tom Glaser

Esta reunión fue posible gracias al generoso apoyo de la Universidad de Virginia, la Fundación Vision for Tomorrow, la Universidad de Georgia, la Beca Service For Sight de Delta Gamma, la Misión de Miranda, la Asociación Internacional del Síndrome WAGR, la Fundación William y Anita Newman y la familia Schain.