

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**“Análisis de los genes gamma-D cristalino y  
Gamma A1/A3 cristalino en pacientes con  
catarata congénita primaria en una muestra de  
pacientes mexicanos”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**P R E S E N T A**

**Luz María González Huerta**

**México D.F.**

**Junio de 2006**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social, con clave2002-CO1-8038. Aprobado en el Hospital General de México. Servicio de Genética bajo la tutoría del Dr. Sergio A. Cuevas C.

## **COMITÉ TUTORAL.**

**Dr. en C. Sergio Alberto Cuevas Covarrubias.**

**Dr. en C. Luis Felipe Jiménez García.**

**Dr. en C. Enrique Isabel Miranda Peralta.**

**Por la oportunidad que me brindan al ser parte de su vida.**

**Por el apoyo y por creer en mí.**

**A mis padres:**

**Marino González y Ma. De la Luz Huerta**

**A mis hermanas**

**Norma Celia y Maricela.**

**Y a las personas especiales para mí.**

**Jaime, Mary, Lydia, Vero, Luz Ma,**

**Carlos Salvador.**

**Gracias**

## INDICE.

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>ANTECEDENTES</b>	
<b>I.- GLOBO OCULAR</b> .....	6
<b>II.- EMBRIOLOGÍA DEL CRISTALINO</b> .....	8
<b>III.- CATARATA</b> .....	12
<b>IV.- ANORMALIDADES CROMOSOMICAS</b> <b>Y CATARATA SINDROMICA Y NO SINDROMICA</b> .....	14
<b>V.- GENES IMPLICADOS EN LA CATARATOGENESIS</b> .....	15
<b>VI.- CRISTALINAS</b> .....	16
<b>PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA</b> .....	19
<b>OBJETIVO</b> .....	19
<b>HIPÓTESIS</b> .....	19
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	20
<b>DIAGRAMA DE FLUJO</b> .....	21
<b>PROCEDIMIENTOS</b> .....	22
<b>MÉTODOS</b> .....	28
<b>RESULTADOS</b> .....	29
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	37
<b>CONCLUSIONES</b> .....	40
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	41
<b>ANEXO A</b> .....	47

## RESUMEN

---

---

La catarata congénita es una opacidad del cristalino que si no es tratada a tiempo conduce a la pérdida de la visión. Reportes en la literatura internacional estiman alrededor de 200,000 niños ciegos con catarata bilateral y alrededor de 20,000-40,000 la desarrollan en el 1er año de vida. En Europa y Norte América se calcula una ocurrencia de 1-4 casos por cada 10,000 niños, en el sur de la India la ocurrencia es aproximadamente de 6.5 casos por cada 10,000 niños y en la República Mexicana se reporta una incidencia aproximada de 10 niños con catarata congénita por cada 10,000 nacidos vivos.

La catarata puede presentarse de manera aislada o formando parte de un síndrome. La mayoría de las cataratas no sindrómicas se transmiten como un rasgo autosómico dominante, aunque también se han reportado formas autosómicas recesivas o ligadas al X. Las cataratas hereditarias presentan variabilidad fenotípica y heterogeneidad genética. Más de 20 loci han sido ligados a la formación de la catarata hereditaria. Mutaciones en los genes CRYGA-D, los cuales codifican para las principales proteínas citoplasmáticas del cristalino, se han asociado a cataratas de distintas morfologías. Las proteínas cristalinas (alfa, beta y gamma) representan más del 90% de las proteínas solubles del cristalino en el humano. Mientras las alfa-cristalinas son proteínas de choque térmico, las beta y gamma cristalinas están incluidas en una superfamilia de proteínas de stress microbiano.

La catarata nuclear es común y sugiere una anomalía en el desarrollo temprano. En general, las opacidades son confluentes y discretas con simetría bilateral. Distintos genes han sido asociados con la presencia de catarata nuclear, i.e., CRYBA3/A1, CRYGD, CRYGS, GJA3 y GJA8. Al parecer los genes más frecuentemente implicados corresponden a los genes que van de CRYBA3 a CRYGS.

Con base en estos antecedentes el objetivo del presente trabajo fue analizar el cluster de genes CRYGA-D en una muestra de pacientes mexicanos con catarata congénita primaria no sindrómica.

Los pacientes fueron diagnosticados clínicamente en el servicio de Oftalmología del Hospital General de México, se les realizó estudio genético y molecular. Se extrajo DNA genómico mediante métodos convencionales, se realizó PCR y secuenciación directa de los genes CRYGA-D en un secuenciador automatizado AB.

Se estudiaron 14 casos no relacionados de los cuales 2 eran familiares y 12 no familiares. En los casos familiares el modo de transmisión era compatible con un patrón de herencia autosómico dominante. En un caso familiar y uno no familiar se observados dos mutaciones diferentes. En el primer caso se detectó una mutación nueva en el gen CRYGD en el exón 3 (A320C) que produjo la sustitución de alanina en lugar de glutamato (E107A). En el segundo caso se trató de un caso esporádico en el cual se detectó una mutación en el gen CRYGC en el exón 3 (C502T) produciendo la sustitución de triptófano en lugar de arginina (R168W), en el caso de este paciente se observó hipotonía muscular al nacimiento y retraso psicomotor.

Las cristalinas son críticas para la función del cristalino jugando un rol estructural en la transparencia y refracción. Se ha reportado un incremento en el número de mutaciones en los genes CRYGA-D causantes de catarata. En el caso familiar observamos una mutación en el gen CRYD no reportada previamente en la región que codifica para el tercer y cuarto motivo griego de la gamma cristalina. Esta transversión produjo la sustitución del aminoácido polar con carga glutamato por un aminoácido pequeño y neutro. La sustitución de puentes de hidrógeno potenciales pudieran en este caso estar afectando la resistencia a la degradación proteolítica. Las cristalinas se caracterizan por su simetría conformacional y cualquier cambio pudiera modificar la topología de la proteína. En el caso no familiar detectamos una mutación en el gen CRYGC ya reportada previamente en un caso de catarata lamelar. Nuestro fenotipo difiere

por ser una catarata nuclear y por presentar hipotonía muscular y retraso psicomotor. Sin embargo, consideramos que estos últimos hallazgos clínicos no son consecuencia de la mutación en CRYGC aunque no podemos descartar completamente la presencia de un efecto pleiotrópico.

En conclusión en el presente trabajo encontramos dos mutaciones causantes de catarata, una de ellas ya reportada, con la que confirmamos el efecto de heterogeneidad clínica con un aparente efecto pleiotrópico y en un segundo paciente, que corresponde al caso familiar, la heterogeneidad genética.



## ABSTRACT

Cataract is the leading cause of reversible blindness in childhood with an occurrence of 1-6/10,000 live new born. Ten percent of blindness in children is attributed to congenital cataracts, a frequent cause of hereditary visual loss in infants. About one third of congenital cataracts are hereditary; most of them show an autosomal dominant pattern. Congenital or infantile cataract is visible within first year of life while juvenile cataract is present within the first decade, age-related cataract occurs after the age of 45 years. However, the age of onset not necessarily is related with the etiology of cataract. More than one classification system of human inherited cataracts has been developed based on the anatomic location or morphology of the opacity (i.e. lamellar, sutural, pulverulent), nevertheless, classification has been difficult due to wide phenotypic variability.

Cataract may be an isolated anomaly or part of a syndrome. The majority of inherited non-syndromic cataracts are transmitted as an autosomal dominant trait but X-linked and autosomal recessive inheritances have also been reported. Inherited cataracts are clinically heterogeneous with inter and intrafamilial variability. Congenital cataracts also are genetically heterogeneous, phenotypically identical cataracts are the result of the molecular defect at different loci and phenotypically variable cataracts have been observed with the same gene defect. Linkage analysis is useful tool to identify different loci that can result in human cataract.

In the present study we analyzed a sample of Mexican patients with nuclear congenital cataract, and described two mutations in the CRYGA-D cluster gene. The first one was found in the *CRGYC* gene and corresponded to missense mutation (502C→T). This mutation has been associated with the phenotype of lamellar cataract. This is a case of phenotypic heterogeneity specifically associated with R168W *CRYGC* mutation. We state that this phenotypic variability excludes the genotype-phenotype correlation.

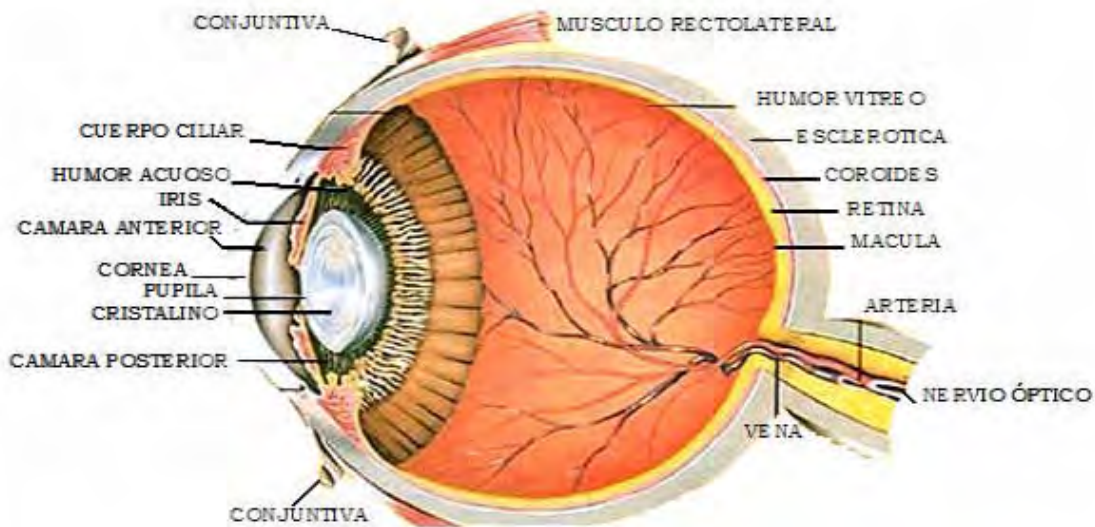
The second one corresponded to nuclear congenital cataract in a non-consanguineous family with two affected members. DNA sequencing analysis of the CRYGA-D cluster genes of the two affected members showed a novel heterozygous missense mutation c.320A>C within exon 3 of the CRYGD gene. This transversion mutation resulted in the substitution of glutamic acid 107 by an alanine (E107A). Analysis of the two unaffected members of the family and the normal parents showed a normal sequence of the CRYGA-D cluster genes. This mutation was not found in a group of 150 unrelated controls. So, we consider that is less likely that this abnormal allele represents rare polymorphism. After genotyping DNA, we found no evidence for non-paternity. In this study we describe a novel mutation (E107A) in the CRYGD associated with nuclear congenital cataract and propose the possibility of germline mosaicism in this family.

## ANTECEDENTES

---

### I.- GLOBO OCULAR

La función del ojo es traducir las ondas electromagnéticas de la luz en impulsos nerviosos que se transmiten al cerebro a través del nervio óptico. El globo ocular es una estructura esférica de aproximadamente 2.5 cm de diámetro (**fig.1**). La parte exterior se compone de tres capas: la capa más externa o esclerótica la cual tiene una función protectora, cubre aproximadamente cinco partes de la superficie ocular y se prolonga en la parte anterior con la córnea transparente; la capa media o úvea tiene a su vez tres partes diferenciadas: la coroides —muy vascularizada, reviste las tres quintas partes posteriores del globo ocular— continúa con el cuerpo ciliar, formado por los procesos ciliares y a continuación el iris, que se extiende por la parte frontal del ojo. La capa más interna es la retina, sensible a la luz (**fig 1**).<sup>(1)</sup>



### BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**Fig. 1.-** Estructura anatómica del ojo.

## **ANTECEDENTES**

---

**CORNEA:** Es una membrana transparente situada en el frente del globo ocular compuesta por cinco capas. Por detrás, hay una cámara llena de un fluido claro y húmedo (el humor acuoso) que separa la córnea de la lente del cristalino. <sup>(1,2)</sup>

**IRIS:** Detrás de la córnea se encuentra el iris, la porción circular del tejido pigmentado que le da su color al ojo, esta estructura pigmentada suspendida entre la córnea y el cristalino, tiene una abertura circular en el centro, la pupila. El tamaño de la pupila depende de un músculo que rodea sus bordes, aumentando o disminuyendo cuando se contrae o se relaja, controlando la cantidad de luz que entra en el ojo. Por detrás de la lente, el cuerpo principal del ojo está lleno de una sustancia transparente y gelatinosa (el humor vítreo) encerrado en un saco delgado que recibe el nombre de membrana hialoidea. La presión del humor vítreo mantiene distendido el globo ocular.

**ESCLEROTICA:** Es la capa externa fibrosa y de color blanco que recubre al globo ocular. Su función es la de proteger las estructuras sensitivas del ojo.

**COROIDES:** Es la capa de vasos sanguíneos y se encuentra detrás de la retina a la que le proporciona oxígeno y otros nutrientes.

**RETINA:** Es la túnica delgada de múltiples capas que se encuentra en la parte posterior del ojo y funciona como una pantalla sobre la cual la córnea y el cristalino proyectan imágenes. La mácula, en el centro de la retina, es la región que distingue el detalle en el centro del campo visual. Dos tipos de receptores visuales hay en la retina, los conos y los bastones, que traducen las imágenes en impulsos nerviosos que se envían al cerebro. Los conos requieren una luz relativamente brillante para su funcionamiento, pero pueden detectar muchos tonos y matices de color. Por el contrario, los bastones requieren muy poca luz, lo que los hace adecuados para la visión nocturna; sin embargo, no pueden discernir los colores.

**CONJUNTIVA:** Es una membrana flexible y transparente la cual forma un sello sobre el blanco del ojo y continúa hasta la superficie del párpado. Dentro de la conjuntiva se encuentran diminutas glándulas que producen lágrimas y mucosidad que ayudan a lubricar el ojo.

**CUERPO VITREO:** El cuerpo vítreo es la masa transparente que ocupa el espacio entre el cristalino y la retina. Está compuesto por una sustancia gelatinosa que mantiene la forma del globo del ojo.

**CRISTALINO:** Se encuentra precisamente detrás del iris, su función es lograr el enfoque preciso, proceso que se conoce como acomodación.<sup>(2,3)</sup>

## ANTECEDENTES

---

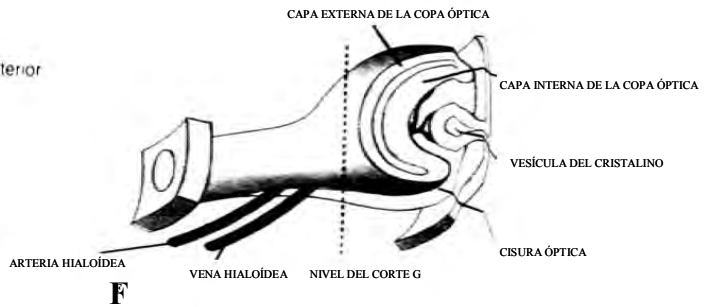
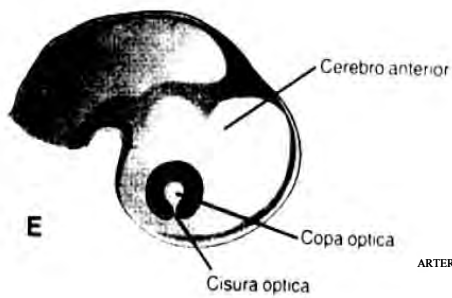
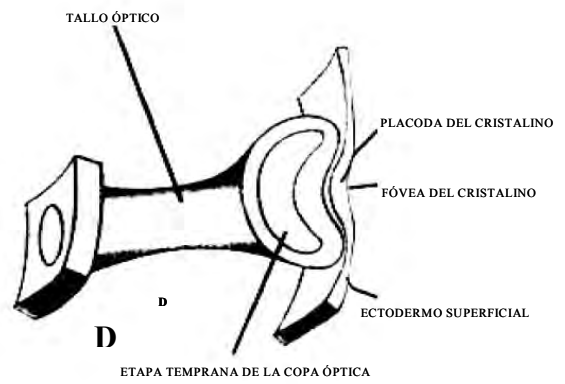
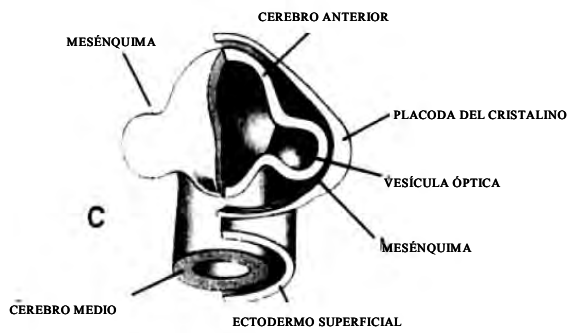
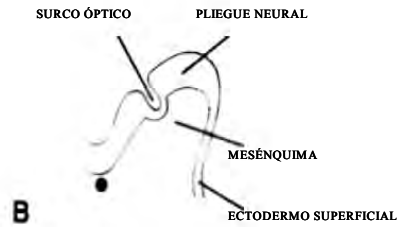
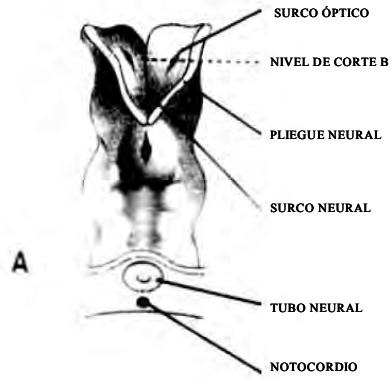
### II.- EMBRIOLOGÍA DEL CRISTALINO

Al nacimiento el cristalino humano pesa cerca de 65 mg incrementándose a 160 mg en la primera década de vida, llegando a pesar 250 mg a los 90 años de edad. Las cristalinas (proteínas estructurales que lo conforman) pueden alcanzar hasta el 60% del peso total del tejido.<sup>(4)</sup>

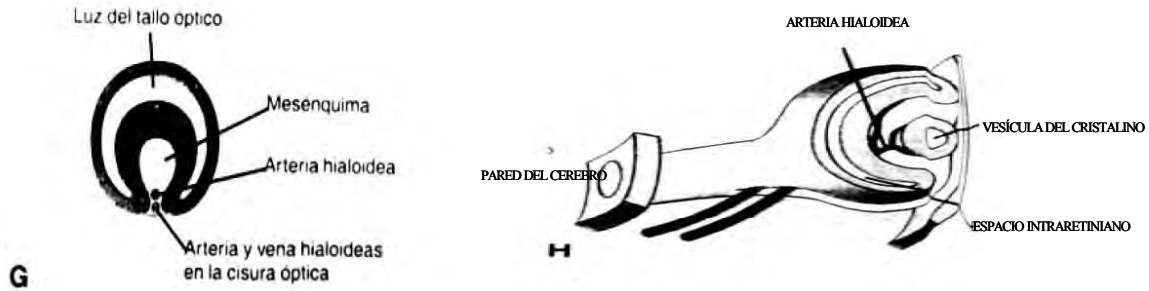
El cristalino se desarrolla a partir de la vesícula del cristalino<sup>(5)</sup>, un derivado del ectodermo superficial (**fig. 2**). La pared anterior de esta vesícula, compuesta de epitelio cuboideo, no cambia de manera apreciable a medida que se transforma en el epitelio subcapsular del cristalino. Los núcleos de las células cilíndricas altas que forman la pared posterior de la vesícula del cristalino se disuelven. Estas células se alargan de manera considerable para formar células epiteliales muy transparentes, las fibras primarias del cristalino. A medida que estas fibras crecen gradualmente obliteran la cavidad de la vesícula del cristalino. El borde del cristalino se conoce como zona o región ecuatorial debido a que se localiza en medio, entre los polos anterior y posterior del cristalino. Las células de la zona ecuatorial son cuboideas. Conforme se alargan pierden sus núcleos y se transforman. Estas nuevas fibras del cristalino se añaden en los lados externos de las fibras primarias del cristalino. Aunque las fibras secundarias del cristalino continúan su formación durante la vida adulta y esta estructura sigue aumentando de diámetro, las fibras primarias deben durar toda la vida <sup>(6)</sup>.

El cristalino en desarrollo recibe su riego por la parte distal de la arteria hialóidea, no obstante, se torna avascular en el período fetal cuando esta parte de la arteria se degenera. Después que esto ocurre, el cristalino depende de la difusión del humor acuoso en la cámara anterior, que baña su cara anterior, y del humor vítreo en otras partes. El cristalino en desarrollo se recubre por una capa mesenquimatosa vascular, la túnica vascular del cristalino. La parte anterior de esa capa es la membrana pupilar (**fig. 3A**). La parte anterior de esta capa es la membrana pupilar. La parte de la arteria hialóidea que riega la túnica vascular del cristalino desaparece al final del periodo fetal. Como resultado, tanto esta última como la membrana pupilar se degeneran (**fig. 3B**); sin embargo persiste la cápsula del cristalino que produce el epitelio anterior del cristalino y sus fibras. La cápsula del cristalino es una membrana basal muy engrosada que, debido a su desarrollo, tiene una estructura laminar. El sitio inicial de la arteria hialóidea queda indicado por el conducto hialóideo en el cuerpo vítreo por lo general no se nota in vivo. El cristalino puede ser detectado primero en la 3-4 semana de gestación. Se ha reportado que el gen *PAX6* es esencial para el desarrollo del cristalino en estadios iniciales de la embriogénesis.<sup>(7-10)</sup>

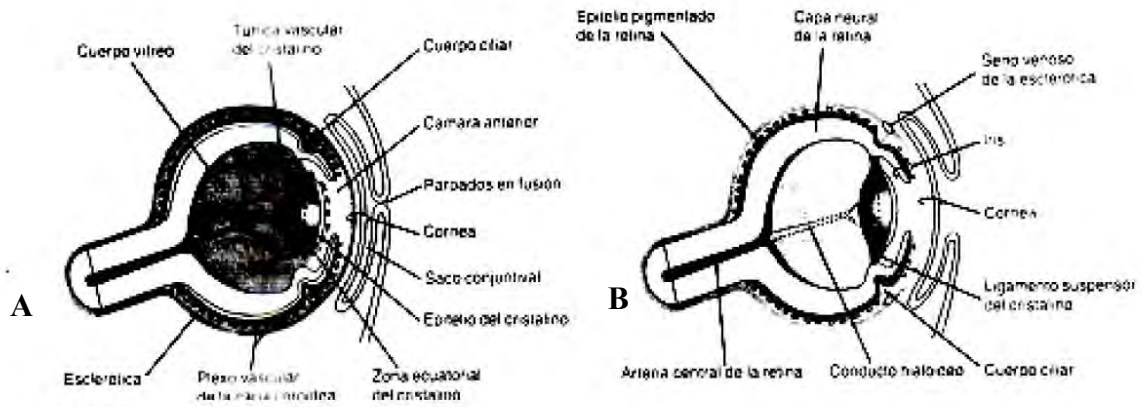
## ANTECEDENTES



## ANTECEDENTES



**Fig. 2.-** Dibujos que ilustran las etapas del desarrollo temprano del ojo. A, vista dorsal del extremo craneal de un embrión de alrededor de 22 semanas que muestra la primer indicación del desarrollo del ojo. B, corte transversal de un surco óptico. C, esquema del cerebro recubriendo el mesénquima y ectodermo superficial. D, F y H, esquemas de cortes del ojo en desarrollo que ilustran las etapas sucesivas de la formación de la copa óptica y vesícula del cristalino. E, vista lateral del cerebro de un embrión de alrededor de 32 días que muestra el aspecto externo de la copa óptica. G, corte transversal del tallo óptico que indica la cisura óptica y su contenido, observándose el crecimiento de los bordes y fusión de la cisura óptica, completándose la copa óptica encerrándose así la vena y arteria centrales de la retina en tallo y copa ópticos



**Fig. 3.-** Dibujos de cortes sagitales del ojo que muestran las etapas sucesivas del desarrollo del cristalino, retina en un recién nacido

## ANTECEDENTES

---

El cristalino es una estructura biconvexa de 9-10 mm de diámetro, avascular y transparente, incluida en una membrana basal secretada por el epitelio del cristalino. Está envuelto en una cápsula responsable de moldear el contenido del cristalino durante la acomodación. Esta cápsula es más gruesa en la zona ecuatorial y más delgada en el polo posterior del cristalino. Un anillo de fibras zonulares, que se inserta en la región ecuatorial, mantiene suspendido el cristalino del cuerpo ciliar. Una monocapa del epitelio cubre sólo la cápsula anterior y el cristalino ecuatorial. Las células de la región ecuatorial muestran actividad mitótica, hay formación de nuevas células epiteliales formadas las cuales se alargan para formar fibras, que pierden sus organelos, lo que optimiza la transparencia del cristalino. (11-13)

Durante la vida se añaden continuamente nuevas fibras subcapsulares al cristalino, lo que hace que las capas más antiguas se vayan comprimiendo progresivamente hacia el centro del mismo. De esta forma, el cristalino crece, tanto en sentido antero-posterior como ecuatorial. (14,15)

Las células epiteliales anteriores son cuboidales ricas en organelos y contienen grandes cantidades de actina, miosina, microtúbulos, espectrina y alfa-actina, presumiblemente para dar estabilidad durante la acomodación (16-18). Tanto las células epiteliales anteriores como las células fibrosas contienen grandes cantidades de proteínas cristalinas.

La cápsula colagenosa rodea durante toda la vida al cristalino, y contribuye a la forma del cristalino durante el proceso de acomodación. (19) Los polos basales de las células epiteliales de la cara anterior descansan en la cápsula, estas células están conectadas por uniones tipo nexo permitiendo el intercambio de metabolitos de bajo peso molecular y de iones. (20-22)

La función principal del cristalino es transmitir y enfocar la luz en la retina. Alrededor del 80% de la refracción es llevada a cabo por la cornea y el cristalino sirve para el enfoque fino y dinámico en la retina. El cristalino humano en edad temprana es incoloro sin embargo se torna amarillo gradualmente con la edad debido a la acumulación proteica de las gamma cristalinas, afectando la visión.(23)



## ANTECEDENTES

---

### III.- CATARATA

La catarata es una opacidad del cristalino que altera la visión y puede ocasionar a la ceguera si no es tratada a tiempo. A nivel mundial aproximadamente 200,000 niños son ciegos por tener catarata bilateral y de 20,000-40,000 niños desarrollan catarata cada año <sup>(24)</sup>

En Naciones como Europa y Norteamérica se estima una incidencia de catarata de 1 a 4 niños por cada 10,000 nacimientos. En el sur de la India la frecuencia es de 6.5 casos por 10,000 niños. Se ha estimado que dentro de las causas de ceguera en los niños la catarata congénita e infantil se presenta en un 10-30%. En América Latina se estima en 1 de cada 200 a 300 nacimientos por año, lo que representa 10 casos nuevos por un millón de habitantes, esto sugiere un porcentaje del 5-20% como causa de ceguera durante la infancia.<sup>(25-28)</sup>

La catarata congénita puede ser causada por embriopatías intrauterinas, defectos de genes individuales o arreglos cromosómicos. La mayoría de las cataratas congénitas no sindrómicas son hereditarias, siendo la mayoría autosómicos dominantes, aunque también se han reportado patrones de herencia autosómico recesivo y ligado al cromosoma X.

En general, las cataratas congénitas son bilaterales y se caracterizan por la localización y estructura de las opacidades, la cual incluye el tamaño, la forma, color, presencia o ausencia de refractividad. Presentan tanto heterogeneidad genética como expresividad variable, es decir, una misma mutación produce distintas formas de catarata en la misma familia e incluso en el mismo paciente y distintas mutaciones producen el mismo tipo de catarata.<sup>(29)</sup>

La clasificación de las cataratas es compleja y por tanto existen diversos sistemas que han intentado clasificarlas. Harman describió la apariencia de las opacidades del cristalino observadas en familias con catarata hereditaria y enlistó 5 grupos: lamelar, coraliforme, estelar, polar posterior y polar anterior y finalmente una indefinida. Posteriormente Clapp dividió las cataratas congénitas en dos grupos como completo y parcial subdividiendo el parcial en zonular, coraliforme, punctata, discoide, piramidal, opacidades Y, fusiforme y la forma de disco.<sup>(30)</sup> En la actualidad de acuerdo a la morfología específica del cristalino considerando la posición y apariencia bajo examinación con lámpara la catarata congénita se ha clasificado en polar anterior, polar posterior, nuclear, lamelar (zonular), pulverulenta, aculeiforme, cortical, polimórfica, sutural, coraliforme y catarata total.<sup>(31)</sup>

## ANTECEDENTES

---

La afección del núcleo del cristalino es común y sugiere una anomalía de la expresión génica en el inicio del desarrollo. Las opacidades pueden ser confluentes o discretas. <sup>(32)</sup>

La catarata pulverulenta deriva su nombre de la apariencia de polvo de las opacidades. Presenta distribución variable de las opacidades del núcleo las cuales pueden ser diferentes, variar entre los miembros de la familia o bien entre los ojos del mismo paciente.

La catarata lamelar también llamada zonular, perinuclear, polimórfica o catarata de Marner's, ocurre comúnmente en las suturas Y posterior y anterior, en algunos casos las opacidades corticales están asociadas con catarata lamelar. <sup>(32)</sup>

La catarata limitada a la corteza es rara y difiere de la catarata lamelar porque el núcleo no está afectado. La patogénesis es desconocida pero su distribución y progresión subsecuente sugieren una anomalía de estados posteriores en el desarrollo del cristalino.

La catarata polar anterior es bilateral, usualmente simétrica, las opacidades del cristalino son circunscritas (raramente progresivas) y pueden heredarse de manera autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X.

La catarata cerulea (puntos azules) presenta opacidades azul-blanco distribuidas completamente en el cristalino llegando a ser más numerosas en la corteza no es verdaderamente congénita, pero se desarrolla en la infancia y progresa en los primeros años de vida, presenta la forma discreta de cabeza de alfiler.

La catarata coraliforme, originalmente descrita por Nettleship, se caracteriza por protuberancias en forma de dedos extendiéndose desde el núcleo semejando a un coral.

La catarata total presenta opacidad del cristalino aparentemente afectando las regiones cortical y nuclear, se han reportado transmisiones autosómica dominante y recesiva ligada a cromosoma X. <sup>(32)</sup>

## ANTECEDENTES

El estudio de la heterogeneidad genotípica correlacionada con la expresión fenotípica a nivel mundial ha permitido establecer más de 15 loci relacionados con catarata por análisis de ligamiento (**Tabla 1**) demostrándose así la heterogeneidad genética del padecimiento.

FENOTIPO	LOCUS	GEN
CCV (Volkmann)	1p36	-
CPP (polar posterior)	1p34-p36	-
CAE1 (CZP1, Como Duffy)	1q21-q25	Conexina 50 ( <i>GJA8</i> )
CCL (Coppock)	2q33-q35	$\gamma$ C-Cristalina ( <i>CRYGC</i> )
CACA (aculeiforme)	2q33-q35	$\gamma$ D-Cristalina ( <i>CRYGD</i> )
BFSP2 (Nuclear y sutural)	3q21-3q22	<i>BFSP2</i>
ADC (Lamelar polimorfica)	12q12-12q14	<i>MIP</i>
CZP	13	Conexina 46 ( <i>GJA3</i> )
CAM (marner)	16q22	Cercana a haptoglobina
CTAA2 (polar anterior)	17p13	-
CCZS (sutural zonular)	17q11-q12	$\beta$ A3- Cristalina ( <i>CRYBA3</i> )
CCA1 (Cerulea)	17q24	-
CRIAA	21q22.3	$\alpha$ A- Cristalina ( <i>CRYAA</i> )
CCA2 (Cerulea)	22q	$\beta$ B2-Cristalina ( <i>CRYB2</i> )

**Tabla 1.-** Loci identificados por análisis de ligamiento asociados a la catarata congénita

#### IV: ANORMALIDADES CROMOSOMICAS Y CATARATA SINDRÓMICA Y NO SINDRÓMICA.

Las anormalidades cromosómicas pueden sugerir localización de genes causantes de catarata cuando su estructura o expresión son alteradas. La catarata total congénita aislada se ha reportado en una translocación t(3;4)(p26.2;p15).<sup>(33)</sup>

La catarata polar anterior congénita aislada se ha reportado en 4 miembros de una familia con translocación balanceada t(2;14)(p25;q24).<sup>(34)</sup> Otra translocación balanceada t(2;16)(p22.3;p13.3) fue heredada en 4 miembros de otra familia manifestándose catarata congénita y microftalmía.<sup>(35)</sup>

El síndrome de Nance-Horan es un desorden ligado al cromosoma X caracterizado por catarata congénita, anormalidades dentales, características

## ANTECEDENTES

---

dismórficas y en algunos casos retardo mental. El gen *NHS* ha sido mapeado en Xp22.13.<sup>(36)</sup>

Además la catarata también ha sido asociada con rearrreglos cromosómicos no balanceados <sup>(36)</sup> y con trisomía del 13, 18, 21 y 20p así como en 18p-,18q+ y en síndrome de Turner (XO), estos pacientes presentan otras anomalías fenotípicas además de la catarata.

La catarata también ocurre en asociación con una variedad de síndromes con malformaciones múltiples. En algunos casos estas asociaciones parecen ser el resultado de un efecto pleotrópico de un gen individual, donde en otros la catarata parece ser secundaria a la patología. En adición la catarata frecuentemente se presenta en enfermedades de la piel tales como distrofias epidérmicas y una variedad de displasias de cartílago y hueso.

### V.- GENES IMPLICADOS EN LA CATARATOGENESIS

Las cataratas son fenotípicamente y genéticamente heterogéneas, más de 30 loci asociados con catarata congénita han sido localizados en 10 diferentes cromosomas, actualmente más de 20 mutaciones han sido identificadas.<sup>(37)</sup>

Al menos 10 genes se han asociado con catarata autosómica dominante, éstos incluyen los genes de las cristalinas (*CRYA*, *CRYAB*, *CRYBA*, *CRYBB*, *CRYGC*, *CRYGD*), homeobox (*PITX3*), proteína intrínseca principal de la fibras del cristalino (*MIP*), proteína de filamentos en gotas (*BFSP2*), conexinas (*CX50*,*CX46*), y factor 4 de choque térmico (*HSF4*). Se han identificado 12 loci y 15 genes específicos asociados con catarata hereditaria no sindrómica.<sup>(38)</sup>

Las  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  cristalinas constituyen las principales proteínas citoplasmáticas en el cristalino humano. Forman un empaquetamiento de oligómeros estables que interactúan con el citoesqueleto que los rodea, manteniendo de este modo la transparencia del cristalino. Los genes *CRYB* y *CRYG* codifican para proteínas ubicuas mientras que el gen *CRYA* codifica para las proteínas de choque térmico.

Se han relacionado múltiples causas con la ruptura de la micro-arquitectura del cristalino que finalmente conlleva a la formación de catarata. <sup>(39-41)</sup> El empaquetamiento ordenado de las cristalinas es importante para mantener una

## **ANTECEDENTES**

---

fase homogénea en la estructura del cristalino, sin embargo un número de factores físicos o bioquímicos pueden alterar esta fase homogénea provocando una separación de las regiones ricas o pobres en proteínas dentro de las fibras del cristalino, provocando opacidad del cristalino. <sup>(42-48)</sup>

Mutaciones en las  $\beta$ - cristalinas se han asociado a la formación de cataratas. La catarata Coppock, se ha relacionado con la región de las  $\gamma$ - cristalinas, al parecer esta catarata es causa de la expresión activada del pseudogen de la  $\gamma$ -E cristalina, el cual está truncado al final del primer motivo.<sup>(53)</sup>

Cierto tipo de catarata lamelar con opacidad sutural se ha asociado con una mutación en el exón 3 de la  $\beta$ A3A1- cristalina ubicada en el cromosoma 17q11-q12. <sup>(54,55)</sup>

La catarata cerulea autosómica dominante está ligada al cromosoma 22q. Se ha reportado una mutación en la cadena terminal en  $\beta$ B2- cristalina, provocando ausencia del cuarto motivo Greek.<sup>(56)</sup>

### **VI.-CRISTALINAS**

El cristalino tiene un poder de transmisión por debajo de 390 nm pero transmite la luz a una longitud de onda de 1200 nm muy eficientemente. La transparencia del cristalino resulta del empaquetamiento apretado de las proteínas, resultando un índice refractivo constante. Las proteínas están diluidas a una concentración por debajo de 450 mg/ml, de este modo la luz puede dispersarse por las proteínas del cristalino. Hay un incremento gradual del índice de refracción en el cristalino humano que va de la corteza (1.38) 73-80% de agua hacia el núcleo (1.41) 68% de agua, habiendo en esta última región un empaquetamiento de gamma cristalinas.<sup>(59)</sup>

Aproximadamente 90 % de las proteínas solubles de los cristalinos en los vertebrados son cristalinas. En los mamíferos, estas proteínas pueden ser divididas en tres clases distintas antigénicamente; las  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  cristalinas, las cuales comprenden varios polipéptidos de estructura primaria relacionada. <sup>(60)</sup> Las alfa cristalinas son un producto de dos genes similares  $\alpha A$  y  $\alpha B$ , tienen un 57% de similaridad en su secuencia. Las  $\beta$  y  $\gamma$  son antigénicamente distintas entre sí pero se han agrupado como miembros de una superfamilia relacionada  $\beta\gamma$ -cristalina.

## ANTECEDENTES

---

Las  $\gamma$  cristalinas representan más del 40% de las proteínas solubles en los cristalinos de mamíferos, son un grupo homogéneo de proteínas monoméricas altamente simétricas. En la rata, seis genes  $\gamma$ -cristalinas están presentes, 5 de los cuales están estrechamente relacionados.

Las cristalinas tienen un peso molecular es alrededor de 21 kDa, con un producto de 174 aa mostrando una alta simetría de una proteína cristalizada la cual puede contribuir a su alta estabilidad en el cristalino.<sup>(61,62)</sup>

Los genes de las  $\gamma$  cristalinas están integrados en un cluster de 4 genes y dos pseudogenes los cuales se encuentran ubicados en 2q-33q-35, este cluster de genes contienen un exón pequeño en el extremo 5' que codifica para 3 aminoácidos y otros dos exones que codifican para los dos dominios que contiene la proteína. La estructura en tercera dimensión de las  $\gamma$ -cristalinas en ovejas, determinada por análisis de difracción de rayos X de alta resolución, reporta que el polipéptido está organizado en dos dominios globulares similares. Cada dominio consiste en dos motivos Greek, que contienen predominantemente hojas  $\beta$ -plegadas. Existe una gran homología entre las  $\gamma$ -cristalinas de varias especies. La observación de estos polipéptidos permite pensar que tienen residuos de aa conservados los cuales son esenciales para mantener la estructura clave del motivo. Se ha mostraron un modelo de la estructura tridimensional de los polipéptidos humanos la cual es muy similar a la establecida en borregos.<sup>(63,64)</sup>

El orden espacial de las cristalinas es probablemente responsable de la transparencia del cristalino. Cambios en la transparencia de los cristalinos durante la cataratogénesis están acompañados por cambios estructurales en las cristalinas.<sup>(65)</sup>

Los residuos involucrados en la estabilización de la estructura del plegamiento de la horquilla en cada motivo son todos conservados con excepción de la Arg-79 en el motivo II, la cual es remplazada por Cys en dos secuencias analizadas, el reemplazamiento del residuo cargado por un aa hidrófobo expone a otros residuos aromáticos de la cadena, por eso se incrementa la hidrófobicidad de la superficie de las  $\gamma$ -cristalinas humanas, éstos y otros cambios tienden a favorecer la agregación de las  $\gamma$ -cristalinas humanas, lo que contribuye a la conversión de proteínas solubles en agua a proteínas insolubles, proceso que ocurre con la edad y está acelerado en la catarata.<sup>(66)</sup>

La heterogeneidad de loci y la variabilidad fenotípica en la catarata congénita autosómica dominante no sindrómica se ha relacionado con un número significativo de mutaciones en el cluster de las  $\gamma$ -cristalina, dichas mutaciones predominan en los genes CRYGC y CRYGD, como se muestra en las tablas 2 y 3.

## ANTECEDENTES

<b>Codón</b>	<b>Nucleótido</b>	<b>Aminoácido</b>	<b>Fenotipo</b>
5	cACC-CCC	Thr-Pro	Catarata Coppock
168	gCGG-TGG	Arg- Trp	Catarata
48	225 ins GCGGC		Catarata zonular pulverulenta

**Tabla 2.-** Mutaciones reportadas en *CRYGC*, de acuerdo a la base de datos de mutaciones en el genoma humano (NCBI – [www.ncbi.nih.gov/entrez/viewer](http://www.ncbi.nih.gov/entrez/viewer) ).

Tabla 3.-

<b>Codón</b>	<b>Nucleótido</b>	<b>Aminoácido</b>	<b>Fenotipo</b>
14	cCGC-TGC	Arg-Cys	Catarata Punctata juvenil progresiva
23	cCCC-ACC	Pro-Thr	Catarata
36	gCGC-AGC	Arg-Ser	Catarata con cristalización proteica
58	CGC-CAC	Arg-His	Catarata aculeiforme
156	TGG-TAG	Trp-Term	Catarata
36	109C>A	Arg-Ser	Catarata nuclear congénita
23	70 C->A	Pro-Thr	Catarata Fasciculiforme
23	70 C>A	Pro-Thr	Catarata coraliforme
23	305C>A	Pro-Thr	Catarata cerulea congénita
58	411G to A	Arg-His	Catarata coraliforme
23	C->A	Pro-Thr	Catarata coraliforme

Mutaciones en *CRYGD*, de acuerdo a la base de datos de mutaciones en el genoma humano (HGMD <http://uwcmm1s.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd/search.html>).

La complejidad y la diversidad de la localización y forma de las cataratas congénitas, implica mecanismos diversos que incluyen la interacción de factores tanto genéticos como ambientales, haciendo de la catarata un modelo interesante para su estudio. De este modo, nos proponemos enriquecer el conocimiento actual en lo relativo a los aspectos clínico/genéticos en la patogénesis de la catarata.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

En estudios previos realizados en distintas enfermedades genéticas como la Ictiosis recesiva ligada al cromosoma X, Glaucoma congénito primario en pacientes mexicanos, hemos encontrado hallazgos diferentes a lo observado en la literatura internacional. Considerando la heterogeneidad genética y la variabilidad fenotípica de esta entidad así como las mutaciones reportadas en el cluster de las  $\gamma$ -cristalinas, el planteamiento de nuestro problema lo definimos de la siguiente manera:

Analizar el cluster de los genes  $\gamma$ CRY-A-D cristalino en una muestra de pacientes mexicanos con Catarata congénita primaria (CCP).



### **OBJETIVO**

Identificar las mutaciones que ocurren en los genes *CRYGA-D* cristalino en la CCP en una muestra de pacientes mexicanos

### **HIPÓTESIS**

Existen mutaciones diferentes a lo reportado en la literatura internacional en los genes *CRYGA-D* en una muestra de pacientes mexicanos asociados a la presencia de CCP.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

### **TIPO DE ESTUDIO**

Transversal, observacional, descriptivo, prospectivo/retrospectivo.

### **SELECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO**

Pacientes que acudan a consulta al Hospital General de México en los servicios de Genética/ Oftalmología, Facultad de Medicina, UNAM.

Diagnóstico clínico de Catarata congénita primaria, no importa sexo, ni edad.

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Con diagnóstico clínico de CCP.

Que acepten participar en el estudio

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Individuos que no deseen participar en el estudio.

En el caso de la catarata congénita que exista algún trastorno metabólico o infeccioso asociado.

### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Cuando no sea posible el procesamiento de las muestras.

### **VARIABLES INDEPENDIENTES**

Tipo de catarata congénita primaria (CCP)

### **VARIABLES DEPENDIENTES**

Mutaciones encontradas en el cluster de genes  $\gamma$ CRYA-D cristalino en la CCP en una muestra de pacientes mexicanos.

### **GRUPO CONTROL**

Este grupo está diseñado para descartar los posibles polimorfismos asociados al cluster de las gamma cristalinas ( $\gamma$ CRY-D). Se invitaron a controles sanos a los cuales se les explicó el proyecto, su participación fue únicamente donando una muestra de sangre para extracción de DNA. Para ser analizado por secuenciación y así identificar alrededor de 300 cromosomas para cada gen analizado. Su uso fue exclusivo para este estudio y la información está disponible para ellos en cualquier momento.

## DIAGRAMA DE FLUJO

CAPTACIÓN DE PACIENTES  
CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO  
DE CATARATA CONGÉNITA  
PRIMARIA

OBTENCIÓN DE  
MUESTRA  
SANGUÍNEA POR  
VENO-PUNCIÓN

EXTRACCIÓN DE  
DNA

AMPLIFICACIÓN DE  
CLUSTER  $\gamma$ CRY MEDIANTE  
PCR

PURIFICACIÓN DE LOS  
AMPLIFICADOS CON  
KIT QUIAGEN

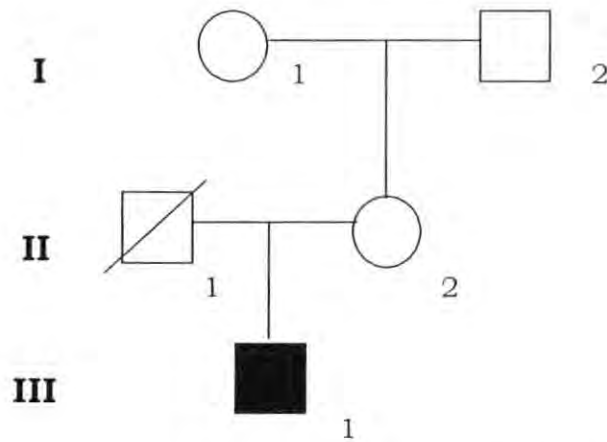
SECUENCIACIÓN AUTOMATIZADA CON  
EQUIPO ABI 310

## RESULTADOS

### CASO A:

Masculino de 2 años 6 meses mexicano, producto de la primera gesta de padres no consanguíneos aparentemente sanos (**Fig. 4**). Embarazo normo evolutivo obtenido por cesárea, con peso al nacer de 3,300 gr., lloró y respiró, se le realizaron estudios de tiroides reportando parámetros dentro de lo normal, VDRL negativo, hospitalizado al nacimiento durante 5 días por hipotonía muscular, retraso psicomotor a la fecha continua, no puede caminar sin soporte, sin embargo es activo e inquieto, habla pocas palabras ("mamá, papá"), dentición normal, clínicamente se reporta sin características dismórficas faciales, pruebas de audición en los límites normales.

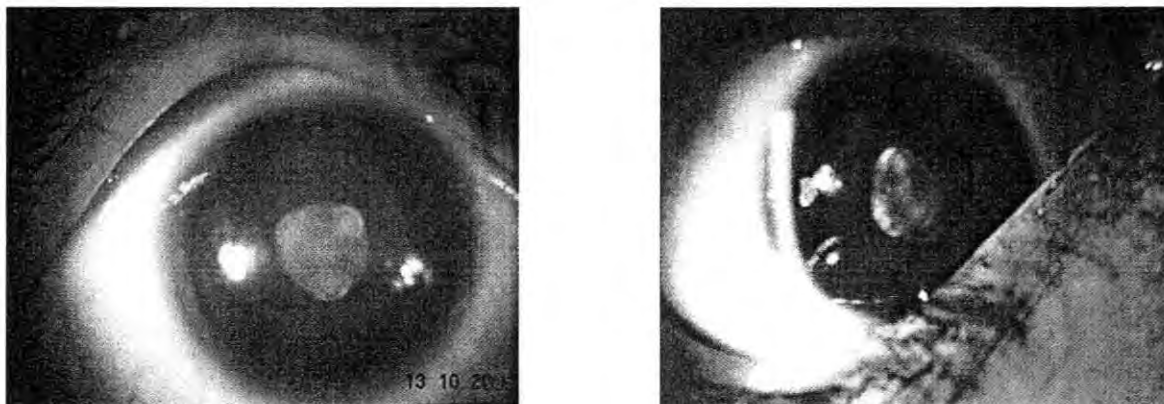
Electroencefalograma, tomografía craneal computarizada no mostró anomalías; estudios de gabinete y especiales (electroforesis de lipoproteínas, pruebas de función hepática, renal y tiroides, uroanálisis y niveles de la hormona adrenal y sexual) dentro de los parámetros normales.



**Fig. 4.-** Árbol genealógico Caso A.

## RESULTADOS

Los síntomas oculares inician a los 2 años con nistagmus y fotofobia. La examinación clínica del paciente mostró iris peripupilar atrofico. El servicio de oftalmología lo remite con diagnóstico clínico de catarata congénita nuclear bilateral (**Fig. 5**), bajo sedación presentó opacidades nuclear embrionaria y fetal, corneas normales (diámetro corneal bilateral de 11 mm), longitud axial O.D 16.21, OI 17.32.



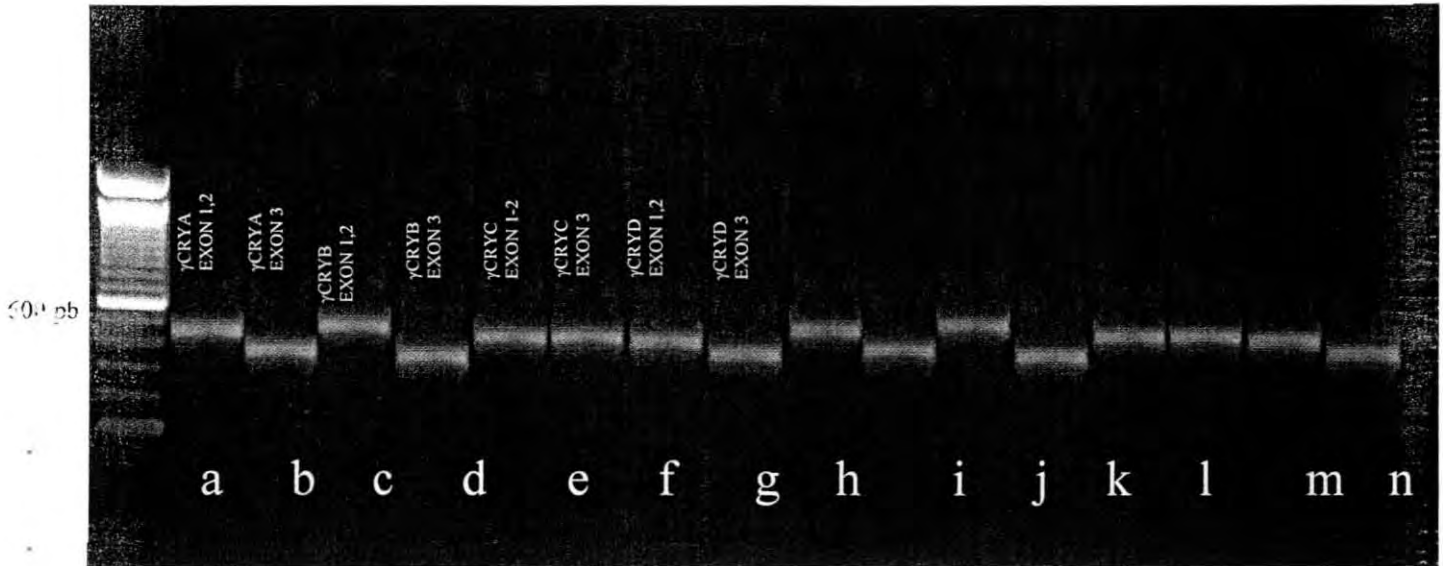
**Fig. 5:** Ojo izquierdo, se aprecia opacidad en el centro del cristalino

Por medio de la técnica salina descrita anteriormente se procedió a extraer el DNA del paciente. El DNA se cuantifico por espectrofotometría así mismo se determino su pureza (1.75) en relación a las proteínas.

La muestra de DNA se utilizo para llevar a cabo la PCR de cada uno de los fragmentos correspondientes a las diferentes regiones del cluster de gamma-cristalinas, utilizando los "praimers" previamente descritos, obteniéndose los amplificados que se muestran en la **fig. 6**.

Posteriormente los amplificados se sometieron a un procedimiento de purificación para ser utilizados como plantados y poder obtener las secuencias en el equipo AB 310, las cuales se representan en los electroferogramas de la **fig 8**.

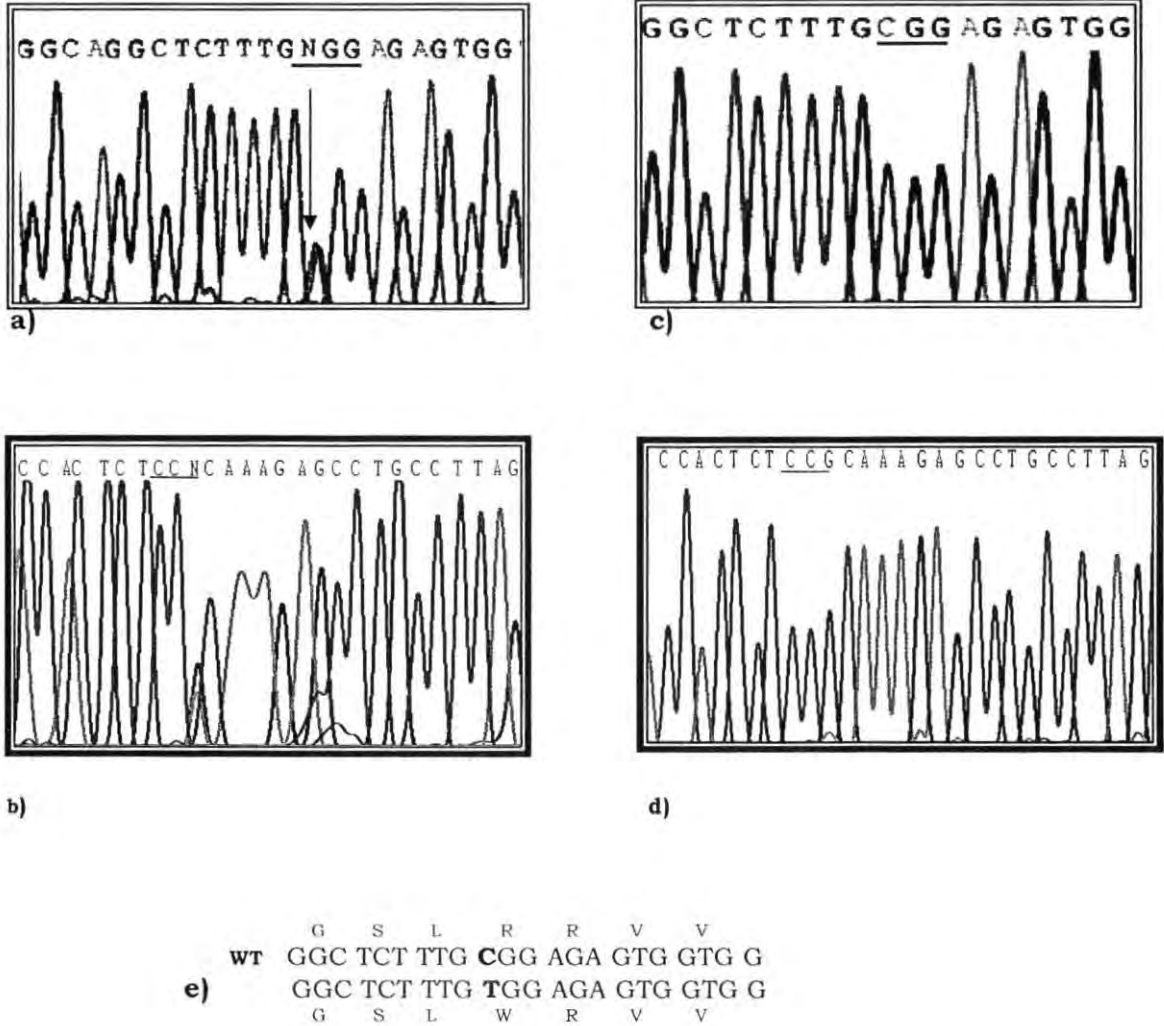
## RESULTADOS



**Fig. 6.-** Gel de agarosa al 1.5% que muestra en los carriles (a-g) amplificación de las regiones  $\gamma$ CRYA-D del paciente, en los siguientes 8 carriles (h-n) se muestra la amplificación del un control sano correspondientes a las mismas regiones del paciente. En el carril q se muestra el marcador de peso molecular de 100 pb, el cual confirma que nuestros fragmentos van de 400-550 pb.

## RESULTADOS

### $\gamma$ CRYC



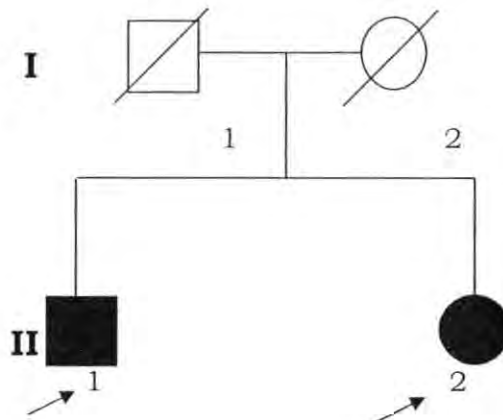
**Fig.7.**-Electroferogramas **a,b)** forward y reverse del paciente que muestra la heterocigocidad de C/T, en el nucleótido 502; **c,d)** electroferogramas del control sano, **c)** comparación de la secuencia wild type con la del paciente mostrando el cambio de Arginina por Triptofano

## RESULTADOS

### CASO B.

Paciente (II-1) masculino de 35 años de edad, producto de padres no consanguíneos y jóvenes (**fig 6**). No presento síntomas al nacer hasta los 4 años manifiesta disminución de agudeza visual, nistagmus y fotofobia, se diagnóstico como catarata congénita nuclear, última agudeza visual del paciente fue de 20/400 en ambos ojos. La reducción de la visión fue progresiva. La morfología de la catarata se muestra en la **fig. 7**. Presenta miopía de alto grado (OD 28.32 mm, OI 26.76 mm de los diámetros antero-posterior).

La hermana del paciente (II-2), femenina de 30 años de edad, manifiesta síntomas a la edad de 5 años con disminución de agudeza visual y fotofobia, diagnosticada también como catarata nuclear. A la exploración clínica se observa agudeza visual de 20/400 en ambos ojos, la reducción de la visión fue progresiva. Presenta miopía con los siguientes diámetros antero-posterior O.D 25.11 mm, OI 25.69 mm.

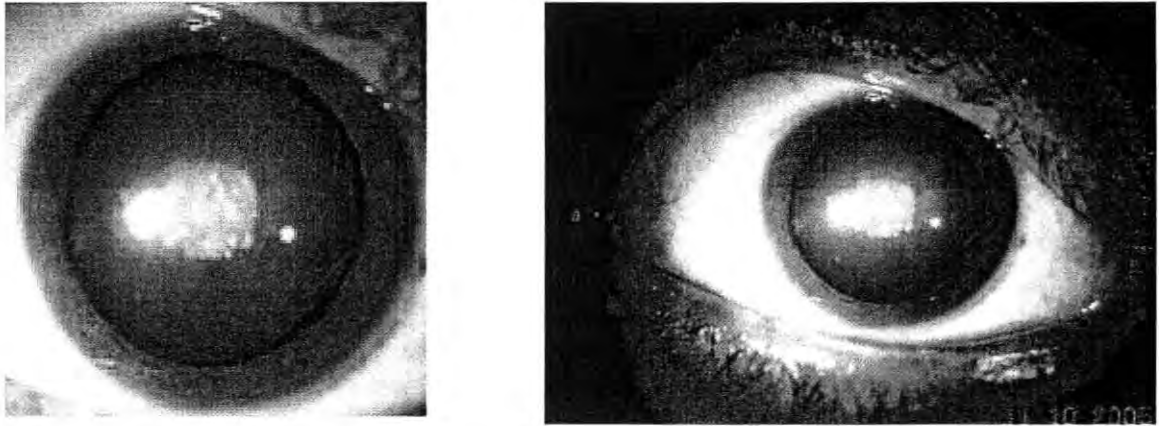


**Fig. 8.-** Árbol genealógico caso B



## RESULTADOS

---



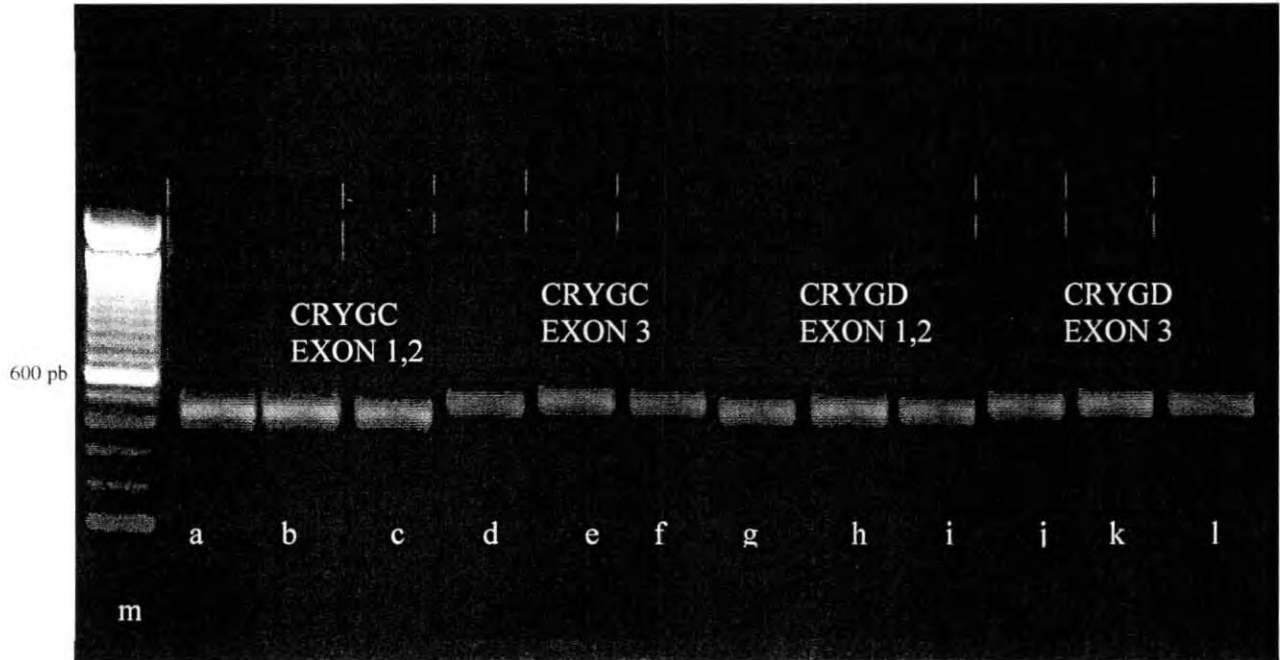
**Fig. 9.-** Morfología de la catarata nuclear de probanda II-1

Después de la valoración clínica oftalmo/genética se procedió a extraer el DNA de los pacientes, mediante la técnica salina. La cuantificación y validación del ác. Nucleico nos permitió amplificar el cluster de las gamma- cristalinas como se muestra en la **fig. 10**, cabe mencionar que aunque no se muestran los amplificadores del CRYGA y CRYGB se llevaron a cabo al igual que en los demás pacientes analizados.

Los fragmentos fueron cortados para ser purificados con el método Quia-gen, utilizando el templado purificado para secuencias como se muestra en los electroferogramas de la fig. 11.

Nota: En el Anexo A se muestran los electroferogramas completos correspondientes a las regiones gamma cristalina A (exón 1-3), gamma cristalina B (exón 1-3), gamma cristalina C (exon 1-3) y gamma cristalina D (exón 1-3).

## RESULTADOS



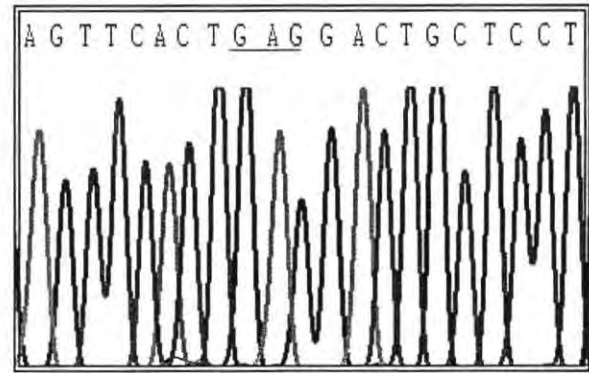
**Fig. 10.-** Gel de agarosa al 1.5% que muestra amplificación de las regiones  $\gamma$ CRYC y D de los pacientes y control sano. Los carriles a,d,g,j son los amplificadores correspondientes al paciente masculino afectado, carriles b,e,h,k, amplificadores de la paciente femenina y carriles c,f,i,l corresponden al control sano. En el carril m se muestra el marcador de peso molecular de 100 pb, el cual confirma que nuestros fragmentos van de 400-550 pb.

## RESULTADOS

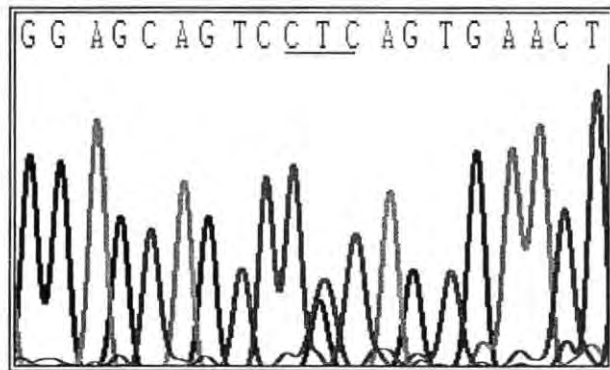
### $\gamma$ CRYD



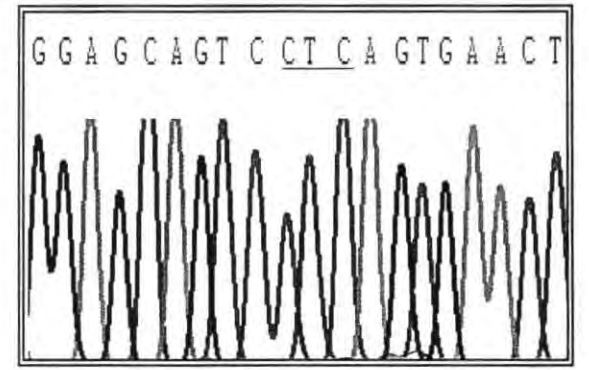
a)



c)



b)



d)

F	T	E	D	C	S
TTC	ACT	<b>GAG</b>	GAC	TGC	TCC T
TTC	ACT	<b>GCG</b>	GAC	TGC	TCC T
F	T	A	D	C	S

**Fig.11.- a,b)** Electroferograma del paciente II-1 que muestra la heterocigocidad de A/C, T/G respectivamente en el nucleótido 320, **c,d)** electroferograma de control sano, comparación de la secuencia wild type con la del paciente mostrando el cambio de Glu por Ala.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

Las cristalinas son proteínas críticas para el funcionamiento del cristalino. Tienen un papel estructural directamente ligado al mantenimiento de la transparencia y contribuyen al poder refractivo del cristalino. La fracción soluble de las proteínas del cristalino comprenden las  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  cristalinas.<sup>(4,16,17)</sup>

En el cristalino humano, 25% de las proteínas totales corresponde a las  $\gamma$ -cristalinas, las cuales están divididas en dos grupos:  $\gamma$ -ABC y  $\gamma$ -DEF cristalinas; en el genoma humano también están presentes los pseudogenes  $\gamma$ E y  $\gamma$ F los cuales no se expresan en tejidos. Las  $\gamma$ C y  $\gamma$ D son las principales  $\gamma$ -cristalinas humanas; el cluster de genes que codifican para las cristalinas está constituido por tres exones, el primero codifica sólo para tres aminoácidos, el segundo codifica para los motivos Greek primero y segundo y el tercer exón codifica para los motivos Greek tercero y cuarto. Cada motivo consiste de una hoja plegada beta, característico de los motivos Greek.<sup>(23,27)</sup>

Existe un incremento en el número de reportes de mutaciones de los genes CRYG asociados a la catarata congénita. Las mutaciones en el cluster de las  $\gamma$  cristalinas representan alrededor de la mitad de mutaciones reportadas en cataratas familiares. La catarata nuclear consiste de opacidades en el núcleo fetal y embrionario del cristalino. Algunos pacientes presentan opacidad central densa rodeada por finos puntos, otros pacientes presentan opacidades con puntos finos involucrando el núcleo fetal embrionario con opacificación de las suturas Y.<sup>(23-32)</sup>

En nuestro estudio el paciente A, caso esporádico, sin antecedentes de consanguinidad, manifestó catarata nuclear bilateral desde los 2 años de edad. Requirió hospitalización al nacimiento durante 5 días por hipotonía muscular, y retraso psicomotor, en ese tiempo los estudios de laboratorio y gabinete estuvieron dentro de límites normales.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

Actualmente puede caminar con ayuda, sin embargo es activo e inquieto, habla pocas palabras (“mamá”, “papá”), su dentinogénesis es normal y no presenta características dismórficas faciales, sus pruebas de audición se encuentran en los límites normales, al igual que los estudios de gabinete y perfiles hormonales. Mediante análisis por secuenciación automatizada identificamos una mutación de sentido equivocado en el tercer exón del la  $\gamma$ -cristalina C en el nucleótido C502T, que provoca un reemplazamiento de arginina por triptofano en el cuarto motivo Greek. La presencia de un aminoácido aromático como el triptofano con dobles enlaces conjugados es un donador potencial de puentes de hidrógeno y se considera como un aa poco frecuente en las proteínas. Este cambio altera la estructura de las cristalinas ya que la arginina tiene una cadena lateral con grupos metilo hidrofóbicos cargados positivamente que le confieren a la proteína su estabilidad estructural. Esta mutación fue previamente descrita en el 2002 con un caso familiar de catarata lamellar, con ello confirmamos la variabilidad fenotípica de esta entidad<sup>(22)</sup>. Cabe destacar que la presencia de hipotonía muscular y retraso psicomotor además de la catarata congénita, se relaciona con un síndrome Nance- Horan (NHS) (catarata-dental). Sin embargo, aunados a estos hallazgos los pacientes con NHS tienen además dentinogénesis anómala, lo cual no ocurre en nuestro paciente. Los estudios normales de laboratorio nos permiten descartar un trastorno metabólico y/o infeccioso<sup>(36)</sup>. Nosotros consideramos este caso corresponde a una catarata congénita nuclear aislada no sindrómica autosómica dominante. Las manifestaciones de retaso psicomotor e hipotonía pudieran estar únicamente asociadas al padecimiento o bien ser una consecuencia de un efecto pleiotrópico del gen. El hecho de no tener más casos afectados en la familia no nos permite llegar a una conclusión más acertada.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

La familia correspondiente al caso B, mostró heterogeneidad clínica, el paciente II-1 presento opacidad central densa rodeada por una discreta opacidad de la corteza y un alto grado de miopía mientras que el paciente II-2 una afección asimétrica discreta en ambos ojos. Sin embargo la principal diferencia morfológica fue la ausencia de cambios corticales en la hermana. Esta heterogeneidad genética puede ser atribuida a la epigenética y/o factores ambientales.

Varias mutaciones en el gen *CRYGD* con amplia variabilidad fenotípica han sido reportadas (tabla 4). El análisis molecular del cluster de genes *CRYGA-D* de los miembros afectados en la familia del caso B mostraron ser heterocigotos para una mutación de sentido equivocado (A320C) no reportada previamente en el tercer exón del gen *CRYGD* que codifica para el tercer motivo Greek. Esta transversión origina el cambio de ácido glutámico en la posición 107 por una alanina. La alanina es un aminoácido pequeño (PM 89.9), neutro incluido en el grupo de los aminoácidos hidrófobicos mientras que el ácido glutámico es un aminoácido hidrófilico (PM 147.13) con un grupo carboxilo cargado negativamente. El enlace H potencial en y dentro de los motivos confiere estabilidad termodinámica para la proteína y resistencia a la degradación proteolítica. El residuo E107 se encuentra sobre la superficie de la molécula interactuando con el agua, por lo que la sustitución de las uniones hidrógeno puede modificar la interacción entre los motivos Greek. Se han reportado cataratas con mutaciones que cambian las propiedades de solvatación de un residuo de aa Las cristalinas están caracterizadas por su conformación simétrica y un cambio puede modificar la topología de la proteína, por lo que consideramos que esta mutación (no encontrada en 150 controles sanos) se encuentra fuertemente asociada a la manifestación fenotípica de catarata nuclear.

## **CONCLUSIÓN**

---

---

En conclusión podemos señalar que la presencia de catarata congénita obedece a una gran cantidad de alteraciones genético / ambientales. Los hallazgos obtenidos en este estudio nos permiten confirmar la heterogeneidad clínica y genética observada en la catarata. Sin embargo, la recreación posiblemente usando un modelo know out en ratones de las mutaciones observadas, pudieran explicar mejor la patogénesis de la catarata congénita.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- [www.svo.org.ve/publico/anatomia](http://www.svo.org.ve/publico/anatomia)
- 2.- [www.clinano.com.ar/publicaciones/atprim\\_1.htm](http://www.clinano.com.ar/publicaciones/atprim_1.htm)
- 3.- [www.drscope.com/pac/mg/b4/mgb4\\_p23.htm](http://www.drscope.com/pac/mg/b4/mgb4_p23.htm)
- 4.- Wistow GJ, Piatigorsky J. Lents Crystallins: The evolution and expresion of proteins for a highly specialiced tissue. *Annu Rev Biochem.*1988; 57:479.
- 5.-Mann I. The Development of the Human Eye. New York, Grune and Straton. 1964.
- 6.-Kusak JR, W. Jaeger EA. Embryiology and anatomy of the lens: Duane´s Clinical Ophthalmology. Philadelphia; Lippincott.1990.p 1.
- 7.- Halder G,Callaerts P, Gehring WJ. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in Drosophila. *Science.* 1995; 267:1788.
- 8.-Hanson I, van Heyningen V. More than meets the eyes. *Trends Genet* .1995;11:268.
- 9.-Walther C,Gruss P. Pax 6, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS. *Development.* 1991;113:1435.
- 10.-Fujiwara M,Uchida T, Sumi-Yamashita N. A new mutation rat with craneofacial abnormalities resmbling those of the mouse Sey mutant.*Differentiation.* 1994;57:31.
- 11.-Oliver G, Loosli F, Koster R, Wittbrodt J, Gruss P. Ectopic lens induction in fish in response to the murine homeobox gene Six3. *Mech Dev.*1994; 60:233.
- 12.- Leal Gómez A, Patología general del cristalino. México D.F, IAP;2000.
- 13.- Scoot Gilbert, Deelopmental Biology, Part 3, sexta edición. 2000
- 14.- Kanski Jack J. Oftalmoloía, 5a. Edición, 164-194Ed. Elsevier España SA,2004
- 15.-Pablo LC. Gaceta Optica. Fernandez. 354,Nov 2001.



## BIBLIOGRAFÍA

---

- 16.-Ramaeckers FCS,Bloemendal H. Cytoskeletal and contractile structures in lens cell differentiation,in Bloemendal H: Molecular and cellular Biology of the Eye Lens.New York, Wiley.1981, p 85.
- 17.-Benedetti L, Dunia I,Ramaeckers FCS, Kibbellar MA. Lenticular plasma membranes and cytoskeleton.in Bloemendal H: Molecular and Cellular Biology of the Eye lens.New York, Wiley.1991, p137.
- 18.-Alcala H,Maisel H. Biochemistry of lens plasma membrane and Cytoskeleton,in Mansel H. The ocular lens. New york, Marcel Dekker.1995,p169.
- 19.-Young RW,Ocumpaung DE: Autoradiografic studies on the growth and development on the lens capsule in the rat.Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996; 65:583,.
- 20.-Goodenough DA, Dick JSB,Lyos JE: Lens Metabolic Cooperation . A study of Mouse Lens Transport and Permeability Visualized with Freeze-susbtitution Autoradiography And Electron Microscopy.J Cell Biol. 1980;86:576.
- 21.-Gorth WC, Snabely MR,Berrong ND. Some Aspect of Transport and Digestion In the Lens of the Normal Young Adult Normal.Expedient Eye Res. 1977; 12:112..
- 22.- Santhiya, S. T, Manohar M. S, Rawlley D, Vijayalakshmi P. Namperumalsamy P, Gopinath P. M, et. al. Novel mutations in the gamma-crystallin genes cause autosomal dominant congenital cataracts. J. Med. Genet. ;39: 352-358.
- 23.- Gu J, Qi Y, Wang L, Wang J, Shi L, Lin H, Li X, Su H, Huang S.A new congenital nuclear cataract caused by a missense mutation in the gammaD-crystallin gene (CRYGD) in a Chinese family. Mol Vis. 2005; Nov 9;11:971-6.
- 24.- Devi RR, Reena C, Vijayalakshmi P. Novel mutations in GJA3 associated with autosomal dominant congenital cataract in the Indian population. Mol Vis. 2005.Oct 11;11:846-52.
- 25.- Merula RV, Fernandes LC. Infantile cataract: the importance of early treatment and diagnosis. Arq Bras Oftalmol. 2005.May-Jun;68(3):299-305.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- 26.- Zenteno JC, Morales ME, Moran-Barroso evidence for molecular homogeneity and intrafamilial clinical heterogeneity in aculeiform cataract. *Mol Vis.* 2005; Jun 30;11:438-42. 2005V
- 27.- Yao K, Sun ZH, Shentu XC, Wang KJ, Tan J. Computer construction and analysis of protein models of the mutant gammaD-crystallin gene. *Chin Med J (Engl)*. 2005;May 5;118(9):738-41.
- 28.- Graw J. Congenital hereditary cataracts. *Int J Dev Biol*. 2004;48(8-9):1031-44.
- 29.- Xu WZ, Zheng S, Xu SJ, Huang W, Yao K, Zhang SZ. Autosomal dominant coralliform cataract related to a missense mutation of the gammaD-crystallin gene. *Chin Med J (Engl)*. 2004 May;117(5):727-32.
- 30.- *Br J Ophthalmol*. 1999;83: 802-808.
- 31.- Gu F, Li R, Shi LS, Huang SZ, Ma X. A missense mutation in the gammaD-crystallin gene GRYGD associated with autosomal dominant congenital cataract in a Chinese family. *Mol Vis*. 2006;Jan 10;12:26-31
- 32.- Jiang H, Jin Y, Bu L, Zhang W, Liu J, Cui B, Kong X, Hu L. A novel mutation in GJA3 (connexin46) for autosomal dominant congenital nuclear pulverulent cataract. *Mol Vis*. 2003; Oct 24;9:579-83
- 33.- Reese PD, Tuck-Miller CM, Maumenee IH. Autosomal Dominant Congenital Cataract Associated with Chromosomal Translocation [t(3;4)(p26.2;p15)]. *Arch Ophthalmol*. 1987;105:1382.
- 34.- Moross T, Vaithilingam SS, Styles S, Gardner HA: Autosomal Dominant Anterior Polar Cataract Associated With a Familial 2:14 Translocation. *J Med Genet*. 1984;21:52.
- 35.- Yokoyama Y, Narahjara K, Tsuji K, Nonamiya S, Seino Y: Autosomal Dominant Congenital Cataract and Microphthalmia Associated with a Familial t(2;26) translocation *Hum Genet*. 1992;90:177.
36. Burdon K. P, McKay JD, Sale M, Russell IM, Mackey DA, Wirth MG, Elder J E, et al. Mutations in a novel gene, NHS, cause the pleiotropic effects of Nance-Horan syndrome, including severe congenital cataract, dental anomalies, and.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- mental retardation. *Am. J. Hum. Genet.* 2003;73: 1120-1130
- 37.-Xiu Wet-Zhen.*Chin Med J.*2004;117(5):727-732.
- 38.- Reedy MA, Francis PJ, Berry V, Bhattacharya SS: Molecular Genetic Basis of Inherited Cataract and Associated Phenotypes. *Serv Ophthalmology* .2004; 49,300-315.
- 39.-Burdon KP, Wirth MG, Mackey DA, Russell-Eggitt IM, Craig JE, Elder JE, Dickinson JL, Sale MM. Investigation of crystallin genes in familial cataract, and report of two disease associated mutations. *Br J Ophthalmol.* 2004;Jan;88(1):79-83.
- 40.-Willoughby CE, Arab S, Gandhi R, Zeinali S, Arab S, Luk D, Billingsley G, Munier FL, Heon E. A novel GJA8 mutation in an Iranian family with progressive autosomal dominant congenital nuclear cataract. *J Med Genet.* 2003;Nov;40(11)124.
- 41.-Maisel H, Chylack LT: The structure of the human crystallin in lens, in Maisel H: *The Ocular Lens.* New York, Marcel Dekker. 1985, 405.
- 42.-Chylack LT, Libondi T, Magnante P, Pennett M: Detection of the molecular changes associated with early cataractogenesis in the living human lens using quasielastic light scattering. *Curr Eye Res.* 1987;6:1421,.
- 43.- Trockel S: Physical basis of lens transparency: *The Ocular Lens.* New York, Marcel Dekker, 1985, p265.
- 44.-Benedek GB, Clark JI, Serrallach EU, Young CY, Mengel T, Sauke A, Bagg A, Benedek K: Light scattering and reversible cataracts in calf and human lens. *Phil trans R Soc Lond A* .1979; 293:329.
- 45.-Clark JI, Benedek GB: Phase diagram for cell cytoplasm from the calf lens. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980;95:482.
- 46.-Tanaka T, Ishimoto C, Chylack LT Jr: Phase separation of a protein-water mixture in cataract in the young rat lens. *Science* .1977;197:1010.
- 47.-Delage M, Clark JI, Benedek GB: Identification of scattering elements responsible for lens opacification in cataracts. *Biophys J.* 1982;37:647.

## BIBLIOGRAFÍA

---

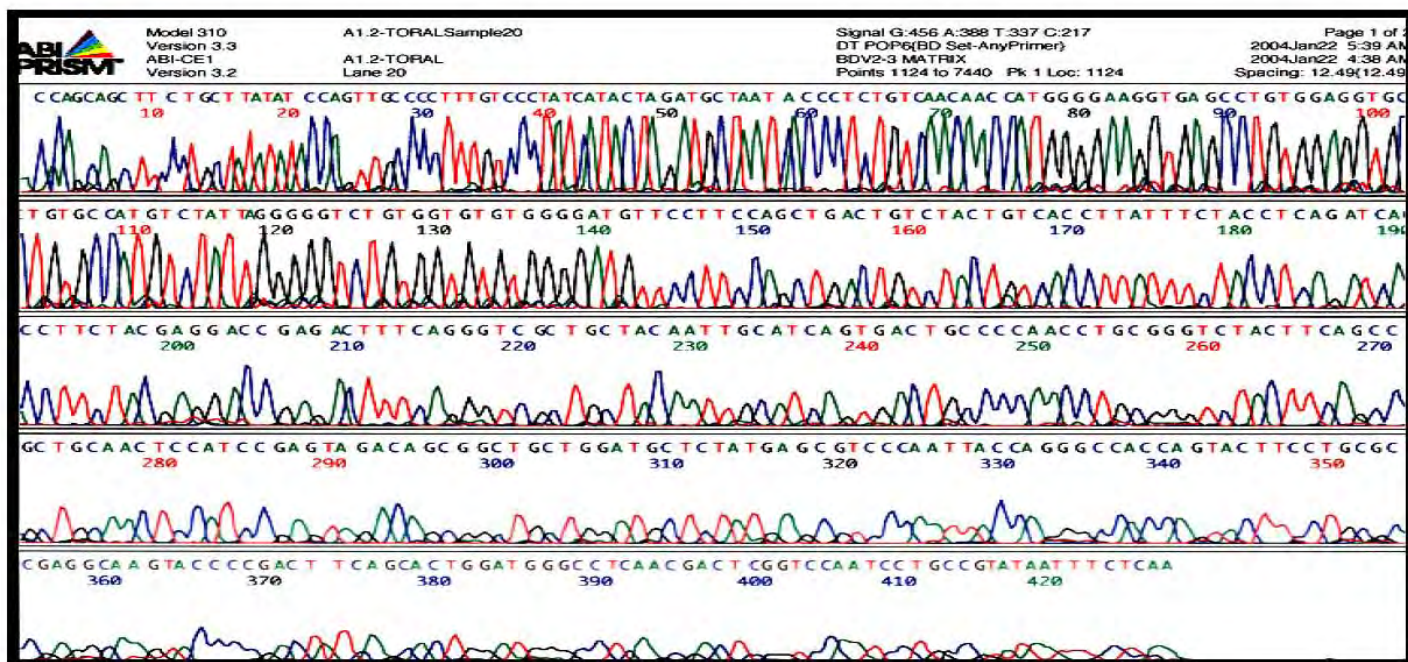
- 48.-Clark JI,Cape D:Phase separation in lens cytoplasm is genetically linked to cataract formation in the Philly mouse.Proc Natl Acad Sci USA. 1987;84:122.
- 49.-Mackay D,Ionides A,Berry V,Moore A,Bhattacharya S,Shiels A: Anew locus or dominant “zonular pulverulent” cataract,on chromosome 13.Am J Hum Genet .1998;62:526.
- 50.- Mackay D,Ionides A, Kibar Z,Roleau G,Berry V,Moore A,Shiel A,Battacharya S:Conexin 46 mutations in autosomal dominant congenital cataract.Am J Hum Genet .1999;64:1357.
- 51.-Gong X,Li E,Klier G,Huang Q,Wu Y,Lei H,Kumar NM,Horwitz J,Gilula NB:Disruption of alpha3-conexin gene leads to proteolysis and cataractogenesis in mice.Cell. 1997;91:833.
- 52.-White TW,Godenough D A: Ocular abnormalities in connexin50 knockout mice.Mol Biol Cell. 1997;8:93.
- 53.-Brakenhoff RH,Henskens HAM, van Rossum MWPC,Lubsen NH, Schoenmakers JGG:Activation of the gammaE-crystallin pseudogene in the human hereditary Coppock-like cataract.Hum Mol Genet.1994;3:279.
- 54.-Padma T,Ayyagari R,Murty JS,Basti S,Fletcher T,Rao GN,Kaiser-Kupfer M,Hejtmancik JF:Autosomal dominant zonular cataract with sutural opacities localized to chromosome 17q11-12.Am J Hum Genet .1995;57:840.
- 55.-Kannabiran C,Basti S,Balasubramanian D,Majundar K,Rao GN,Kaiser-Kupfer M,Hejtmancik JF:Autosomal dominant zonular cataract with sutural opacities:Result of splice site mutation.Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998;39:S418.
- 56.-Litt M,Carrero-Valenzuela R,La Morticella DM,Schultz DW,Mitchell TN,Kramer P,Maumence IH:Autosomal dominant cerulean cataract is associated with a chain termination mutation in the human beta-crystallin gene CRYBB2.Hum Mol Genet. 1997;6:665.
- 57.-Litt M,Kramer P,La Morticella DM,Murphey W,Lovien EW,Weleber RG: Autosomal dominant congenital cataract associated with a missense mutation in the human alpha crystalline gene CRYAA.Hum Mol Genet. 1998;7:471.

## BIBLIOGRAFÍA

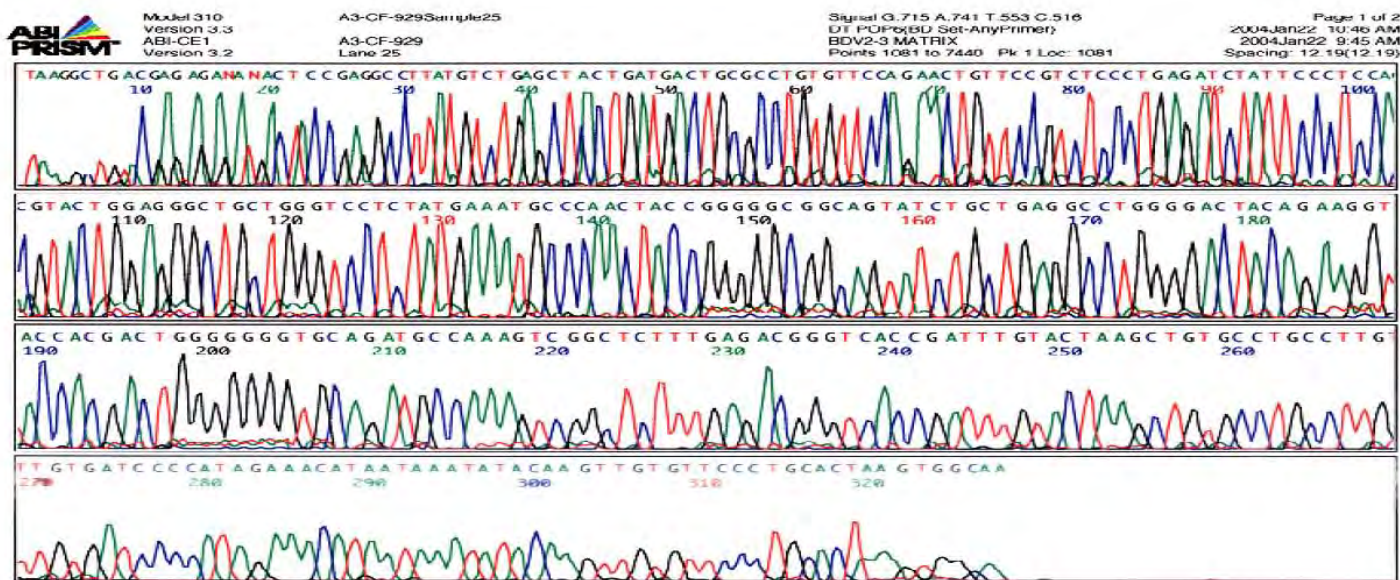
---

- 58.-Eiberg H,Nielsen LS, Klausen J,Dhalen M,Kristensen M,Bisgaard ML,Mooler N,Morh J:Linkage between serum cholinesterase 2(CHE2)and gamma-crystallin gene cluster(CRYG):Assignment to chromosome 2.Clin Genet. 1989;35:313.
- 59.-Augusteyn RC,Koretz JF: A possible structure for alpha-crystallin:FEBS Lett .1987;222:1.
- 60.-Augusteyn RC.Alpha-crystallin: a review of its structure and function.Clin Exp Optom. 2004;Nov;87(6):356-6.
- 61.- Harrington V, McCall S, Huynh S, Srivastava K, Srivastava OP. Crystallins in water soluble-high molecular weight protein fractions and water insoluble protein fractions in aging and cataractous human lenses: Mol Vis. 2004; Jul 19;10:476-89.
62. Kosinski-Collins MS, Flaugh SL, King - Probing folding and fluorescence quenching in human gammaD crystallin Greek key domains using triple tryptophan mutant proteins.Protein Sci. 2004 ;Aug;13(8):2223-35.
- 63.-Russel P,Meakin SO,Hohman TC,Tsui LC,Breitman ML:Relationship between proteins encoded by three human gamma crystalline genes and distinct polypeptides in the eye lens.Mol Cell Biol .1987;7:3320.
- 64.-Siezen RJ,Thomson JA,Kaplan ED,Benedek GB:Human lens gamma crystalline:Isolation,identification,and characterization of the expressed gene products.Proc Natl Acad Sci USA .1987;84:6088.
- 65.- Graw J, Neuhauser-Klaus A, Klopp N, Selby PB, Loster J, Favor J. Genetic and allelic heterogeneity of Cryg mutations in eight distinct forms of dominant cataract in the mouse. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004 ;Apr;45(4):1202-13.
- 66.- Srivastava OP, Kirk MC, Srivastava K. Characterization of covalent multimers of crystallins in aging human lenses.J Biol Chem. 2004 Mar 19;279(12):10901-9.

# ANEXO A



a)



b)

Electroferogramas del gen CRYG A, a) exón 1,2 y b) exón 3