



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
SERVICIO DE GENETICA

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO
DE BIÓLOGO.

PRESENTA:
AIDE LETICIA JUAREZ SOLIS

ANÁLISIS DEL ELEMENTO IRE EN UNA MUESTRA DE
PACIENTES MEXICANOS CON CATARATA POR
HIPERFERRITINEMIA

DIRECTOR:
M. EN C: LUZ MARIA GONZALES HUERTA

ASESOR INTERNO:
DR. EN C: MARIO ALTAMIRANO LOZANO



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano.

DEDICATORIAS

A mi abuelita: Francisca por enseñarme a vivir con esperanza, voluntad y mucho amor.

A mis padres: Gregorio y Juana, sobre todo a mí madre por estar siempre apoyándome cuando más la necesitaba.

A mis hermanos: Eva y Manuel, pero con todo mi corazón a mi hermano Felipe donde quiera que este.

A mis amigos: Cinthia Cervantes, Ana Luisa Jiménez, Alberto Aguirre y José Leobardo Méndez por que los amigos son como ángeles que te llevan en sus brazos cuando ya no puedes caminar.

AGRADECIMIENTOS

DR. Edelmiro Santiago Osorio

M. en C. Luz Maria González Huerta

Dr. Sergio Alberto Cuevas Cobarrubias

Dr. Mario Altamirano lozano

Por el apoyo en la licenciatura y el presente trabajo

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA
MOLECULAR DE LA UNIDAD DE GENÉTICA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO
O.D

TITULADO:

ANALISIS DEL ELEMENTO IRE EN UNA MUESTRA DE PACIENTES MEXICANOS CON
CATARATA POR HIPERFERRITINEMIA

DIRIGIDO POR:

M. EN C. LUZ MA. GONZALEZ HUERTA

ASESORADO POR:

DR. EN C. MARIO ALTAMIRANO LOZANO

2006-2007

REALIZADO POR:

AIDE LETICIA JUAREZ SOLIS

INDICE

Pagina

<u>Resumen.....</u>	<u>6</u>
<u>I.- Marco Teórico.....</u>	<u>7</u>
<u>II.- Planteamiento y Justificación del problema.....</u>	<u>14</u>
<u>III.- Objetivo General.....</u>	<u>15</u>
<u>IV.- Objetivo Particulares.....</u>	<u>15</u>
<u>V.- Hipótesis</u>	<u>16</u>
<u>VI.- Metodología.....</u>	<u>17</u>
<u>VII.- Resultados.....</u>	<u>24</u>
<u>VIII.- Discusión de resultados.....</u>	<u>34</u>
<u>IX.- Conclusiones y recomendaciones.....</u>	<u>38</u>
<u>X.- Referencias.....</u>	<u>39</u>
<u>XI.- Anexó.....</u>	<u>42</u>

RESUMEN

Las enfermedades oculares son comunes en la población humana (1). Se calcula que existen 180 millones de personas en el mundo que tienen problemas de visión (2). Actualmente se estima más de doscientos loci humanos causantes de enfermedades oculares asociadas o no a otros síndromes (3), lo cual representa un problema de salud pública, económico y social en especial en los países en vías de desarrollo donde viven nueve de cada diez ciegos del mundo (2). Aproximadamente 50% de los ciegos del mundo padece cataratas (la catarata es una opacificación del lente cristalino del ojo), estas son la mayor causa de ceguera en el mundo se estima que 20 millones de personas están ciegas como consecuencia de esta enfermedad (2).

El síndrome de catarata por hiperferritinemia (SHC) es una condición autosómica dominante causada por mutaciones heterogéneas en el elemento de respuesta al hierro (IRE) que se encuentran en la cadena tres de la ferritina localizada en el cromosoma 19q 13.3-13.4 (4), se han reportado mutaciones puntuales así como pequeñas inserciones y deleciones en la región del IRE causantes de SHC (5), se conocen de 22 mutaciones puntuales así como 1 inserción, 1 mutación sin sentido, 4 pequeñas deleciones y 2 deleciones mayores (6).

Sin embargo no existen reportes de estudios realizados de catarata por hiperferritinemia en poblaciones latinas o mexicanas de esta manera nuestro objetivo consistió en identificar las posibles mutaciones en el elemento IRE en una población con pacientes Mexicanos en el Hospital general de México el cual es un hospital de afluencia nacional.

Al realizar este estudio se encontraron casos de catarata por hiperferritinemia en la población mexicana y en el análisis del gen del elemento de respuesta al hierro se encontraron dos alteraciones diferentes una ya reportada por Guirelli (1995) Blood 86, 4050 (+41) (G-C), (6) y una mutación que aun no ha sido reportada y que posiblemente sea de novo en la familia afectada la cual fue (+50) (A-C).

I.- MARCO TEÓRICO

Catarata

Las enfermedades oculares son comunes en la población humana (1). Se calcula que existen 180 millones de personas en el mundo que tienen problemas de visión (2). Esto representa un problema de salud pública, económico y social en especial en los países en vías de desarrollo donde viven nueve de cada diez ciegos. Aproximadamente el 50% de los ciegos a nivel mundial padece cataratas, se estima que 20 millones de personas están ciegas como consecuencia de esta enfermedad (2). Tan solo en Europa la frecuencia es de 1 a 4 individuos por 10000 nacidos vivos (3).

Una catarata es la pérdida de la transparencia del cristalino estas pueden presentarse poco después del parto en cuyo caso se denominan cataratas congénitas los factores de riesgos son las enfermedades metabólicas heredadas, los antecedentes familiares de cataratas o una infección viral materna (2,3). La clasificación de las cataratas hereditarias es difícil debido a la amplia variación en su morfología las opacidades que afectan los núcleos son comunes entre las cataratas congénitas y sugiere la anormalidad de la expresión génica en el desarrollo temprano (7).

Actualmente se estiman más de doscientos loci humanos causantes de enfermedades oculares asociadas o no a otros síndromes (3). Muchos de ellos participan en el desarrollo y formación del segmento anterior del ojo constituido por la cornea y el cristalino. El cristalino se desarrolla por la formación del núcleo embrionario durante la morfogénesis; alrededor del cual las fibras del cristalino se depositan a lo largo de la vida modelos animales sugieren que los genes implicados en la formación de la catarata se expresan de una manera ordenada y secuencial (7).

El cristalino está compuesto en su mayoría por agua y proteínas. Aproximadamente el 90% de las proteínas solubles de los cristalinos en los vertebrados son cristalinas (8).

En los mamíferos, estas proteínas pueden ser divididas antigénicamente en tres clases distintas; las alfa, beta y gama cristalinas, las cuales comprenden varios polipéptidos de estructura primaria relacionada, las alfa cristalinas representan más del 40% de las proteínas solubles en los cristalinos de los mamíferos (8).

El cristalino tiene un poder de transmisión por debajo 390nm pero trasmite la luz a una longitud de onda de 1200nm muy eficientemente.

La transparencia del cristalino es el producto del empaquetamiento apretado de las proteínas, dando como resultado 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. Cuando estas proteína se acumulan, nublan el cristalino disminuyendo la luz que llega a la retina, la opacidad puede ser tan severa que hace borrosa la visión, o en casos más graves la perdida de la visión (9).

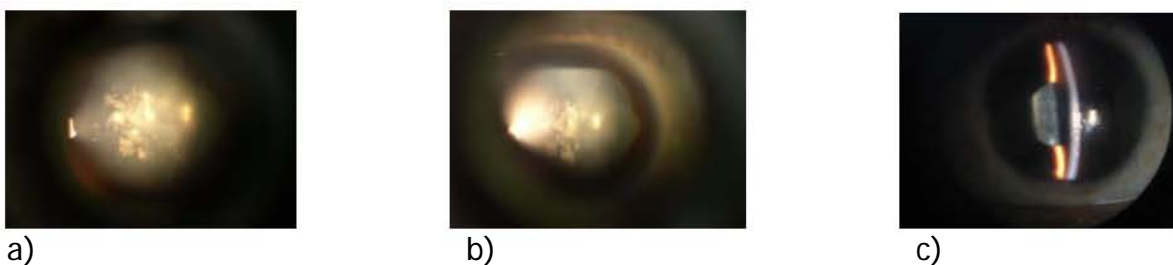
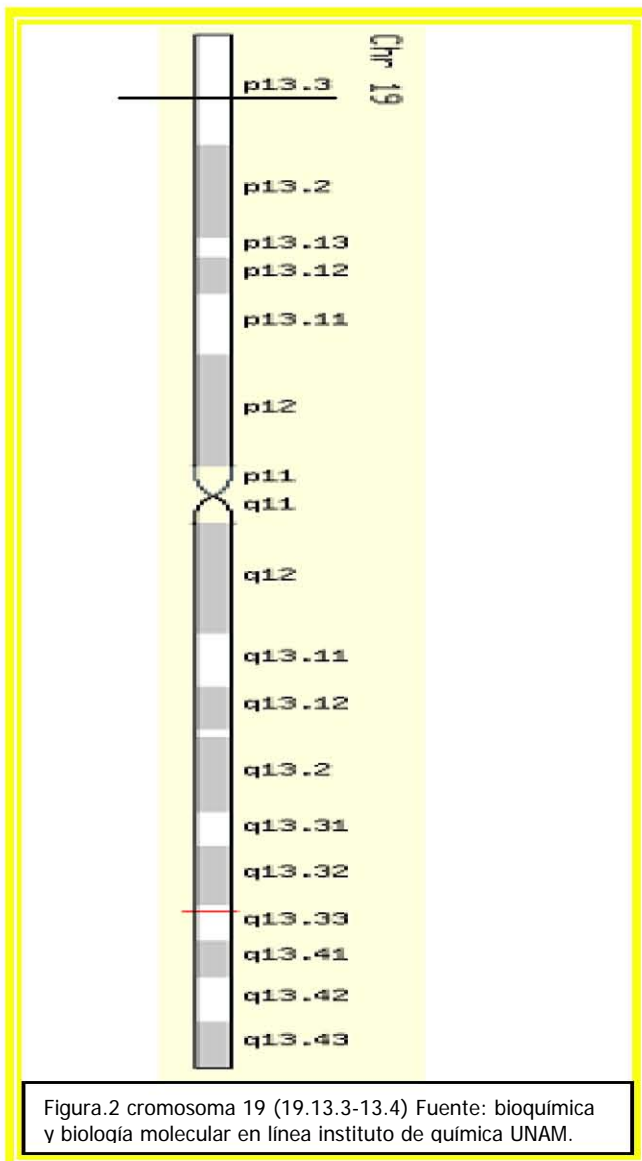


Figura 1. catarata pulverizada es la forma que en su mayoría presentan las cataratas por hiperferritinemia. De izquierda a derecha a) cristalino de frente donde se percibe la catarata pulverizada. B) cristalino tomada de la parte superior del ojo se percibe la catarata pulverizada y c) cristalino tomado frontalmente se percibe la catarata. Fotos tomadas de la paciente PMSCH02.

Catarata por hiperferritinemia

El tipo de catarata que nos ocupa es producida por un síndrome denominado Síndrome de Cataratas por Hiperferritinemia (**SHC**), fue descrito de forma simultánea e independiente por dos grupos de investigadores, uno italiano y otro francés, en 1995 (9,10), la frecuencia de este síndrome es baja, pero conforme se va conociendo su existencia por parte de los clínicos aumentan las comunicaciones de familias afectadas (11,12).



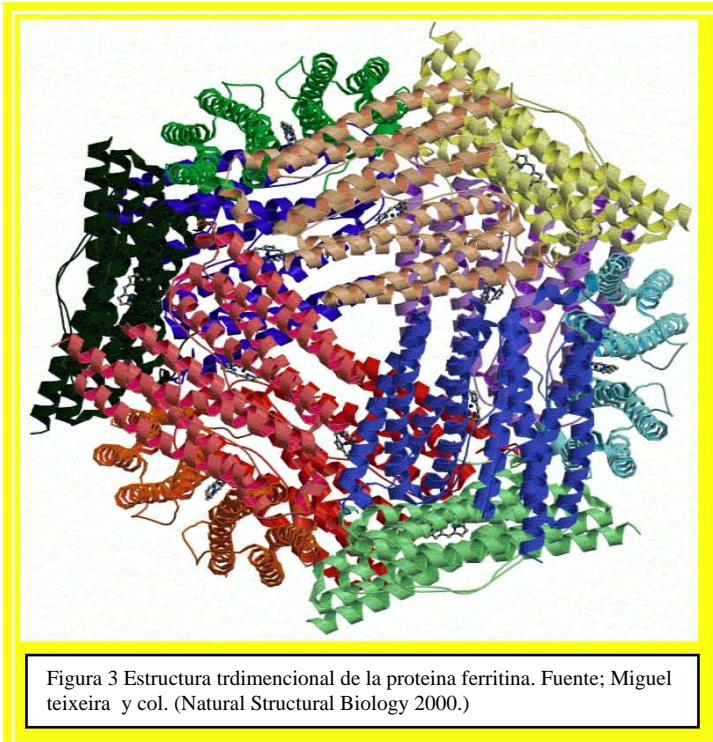
Los primeros casos descritos se hicieron en familias en las que la presencia de hiperferritinemia en varios miembros hizo sospechar el diagnóstico de hemocromatosis (13).

Todos los casos se asociaban con cataratas congénitas nucleares. Posteriormente se han descrito alteraciones en el gen de L-ferritina como origen de la enfermedad (13,14).

El síndrome hereditario por hiperferritinemia es un desorden genético autosómico dominante caracterizado por una elevada concentración de ferritina en suero (en sangre se encuentra exclusivamente L-ferritina, considerándose niveles elevados los que sobrepasan 300 µg/L en el varón y 200 µg/L en la mujer) y una catarata de inicio temprano (15), se ha sugerido que la causa de SHC es una mutación heterocigota en la secuencia del elemento responsable del hierro (IRE) del gen de la ferritina localizado en el cromosoma 19. (13, 14, 15, 16, 17, 18). Figura 2.

Cadenas H y L

En condiciones normales el hierro es controlado a través de la unión a proteínas de mayor afinidad las cuales también sirven para transporte y almacenaje del mismo (transferrina, lactoferrina y ferritina; Figura 3.), el hierro se almacena en las células de los tejidos como ferritina y hemosiderina (19).



La ferritina es un complejo formado por hierro y una proteína la apoferritina esta forma parte de algunos sistemas enzimáticos y de una proteína muscular llamada mioglobina.

Es la proteína principal para el almacenamiento de hierro en la sangre y es proporcional a los depósitos de hierro.

Esta presente en todas las células del organismo y funciona como secuestradora de átomos de hierro en el citoplasma de la célula protegiéndola contra los efectos tóxicos del metal libre.

Esta proteína esta formada por 24 subunidades polipeptídicas ensambladas que constituyen la forma de almacenaje más importante del hierro, posee un peso de 20-22kDa esta conformada por dos tipos de subunidades o isoformas las cuales tienen familias multigénicas, estas dos isoformas son la H y la L (15, 20) el gen para la isoforma H se encuentra en el cromosoma 22 y su producto proteico pesa 22 kDa esta es mas ácida (pH de 4.5-5) y se encuentra en el músculo miocardio eritrocitos, linfocitos y monolitos (15). El gen para la isoforma L esta en el cromosoma 19, y su producto proteico pesa 20 kDa es mas básica (pH de 5-5.7) y se encuentra en el hígado, el bazo y la placenta (15).

La función de la H-ferritina parece ser más activa en la captación y eliminación del hierro, mientras que la de la L-ferritina es más de almacenamiento (20, 21).

IRE/IRP

La estructura del IRE consta de un anillo formado por 6 bases, donde tiene lugar principalmente la unión con las proteínas reguladoras del hierro (*iron-regulatory proteins*) (IRP). Se han descrito 22 mutaciones en la región regulatoria, 4 deleciones, 1 pequeña inserción y dos deleciones grandes (6). Lo que implica una gran variabilidad genotípica (9, 22).

La síntesis de ferritina tiene una regulación transcripcional donde actúan diferentes citosinas, incrementándose sus niveles en infecciones, inflamaciones y neoplasias, independientemente de los niveles de hierro (22). Sin embargo, la regulación fundamental es a nivel traduccional a través de unos elementos situados en la región 5' no traducida del ARNm del IRE, mecanismo que así mismo se comparte con otras proteínas importantes en el metabolismo del hierro (10,22,23), el IRE se une a las IRP en el citoplasma, y cuando las cifras de hierro están bajas esa unión tiene un efecto inhibitorio que se manifiesta de forma diferente según esté situado el IRE en posición 5' o 3' (9, 18, 22, 24). En el caso de la ferritina, el IRE en posición 5' al unirse a las IRP inhibe su síntesis, por lo tanto las alteraciones en el IRE impiden su unión con las IRP permitiendo su síntesis repetida independientemente de los niveles de hierro (28). Las hormonas tiroideas actúan directamente a este nivel impidiendo la unión de las IRP al IRE de la L-ferritina y ello justifica la presencia de hiperferritinemia en el hipertiroidismo (25, 26). Lo que sugiere una correlación entre el fenotipo y genotipo en esta enfermedad (14).

Se sabe que las mutaciones localizadas en el asa producen una mayor alteración de la unión del IRE con las IRP y se asocian a concentraciones mayores de ferritina (1.200-2.700 µg/l) y cataratas severas de aparición precoz, en cambio, las mutaciones situadas en la proximidad o en la propia protuberancia del tallo del IRE, producen una afectación moderada (5,16) y las localizadas en la base del tallo elevan la ferritina en un rango de 350-650 µg/l y se asocian a cataratas asintomáticas (14).

Aunque la ferritina se encuentra elevada en todas las células del organismo, parece ser inofensiva para estas ya que no produce cambios en el metabolismo del hierro salvo en el cristalino, se desconoce la patogenia del origen de las cataratas ya que a pesar de la mayor concentración de ferritina en el cristalino esta continua siendo soluble esto sugiere que tal vez afecte a la solubilidad de otras proteínas en el cristalino y así mismo afecta la capacidad antioxidante del mismo (18,27).

Enfermedades donde se encuentra alterada la ferritina

En condiciones normales, la cantidad de ferritina sintetizada y secretada en el suero es proporcional a la cantidad de ferritina celular producida en la vía de almacenaje interno del hierro. Dicha concentración de hierro sérico, está usualmente relacionada a la cantidad de hierro almacenada en el organismo y aporta un parámetro sobre los depósitos tisulares de hierro, en consecuencia valores bajos aparecen en estados ferropénicos y los elevados en estados de sobrecarga de hierro, lo cual puede medirse en suero mediante radioinmunoanálisis (28, 29, 30).

Sin embargo, las concentraciones séricas de ferritina pueden estar elevadas fuera de proporción con respecto a los depósitos de hierro, en presencia de ciertos síndromes clínicos, que incluyen enfermedad hepática, renal, infección por virus de inmunodeficiencia humana, infección o inflamación sistémica no asociada al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), enfermedades malignas, transfusiones de sangre y síndromes hemolíticos (30).

La hemosiderina constituye la segunda forma de depósito del hierro, un depósito relativamente insoluble almacenado sobre todo en el hígado (células de Kupffer) y en la médula ósea (macrófagos). Normalmente, la mayor proporción del hierro almacenado en el organismo (1 g en el hombre y un poco menos en la mujer en el periodo menstrual y niños) se encuentra en forma de ferritina, pero cuando se almacena en forma patológica, las proporciones de hemosiderina se incrementan (30).

En los desórdenes que no están típicamente asociados a sobrecargas de hierro, podría especularse que las elevaciones extremas de la ferritina sérica pueden resultar de una activación de las citocinas, que median la respuesta de fase aguda, tal como la interleucina (IL-1), esta es el primer mediador de la respuesta de fase aguda (29). Se ha demostrado que sirve para regular la transcripción de la ferritina (30), esto tiene particular relevancia en los pacientes con infección por VIH, en quienes con frecuencia la saturación de la transferrina (<15%) está significativamente aumentada (31, 32).

Fusch (33) evaluando el estatus del hierro en pacientes VIH anémicos encontraron niveles elevados de ferritina sérica y niveles de circulación de la transferrina sérica disminuidos, todo esto correlacionado con el desarrollo de la anemia. Se ha reportado que la anemia en los pacientes VIH está correlacionada con niveles altos de IL-1, y muchos investigadores han encontrado que la producción de IL-1 por las células mononucleares de los pacientes con VIH está aumentada en comparación con pacientes no infectados con VIH (34).

Es posible que la IL-1, facilite el cambio de los depósitos de hierro a un estado de transferrina, fácilmente disponible para la eritropoyesis, e inmediatamente accesible para pasar al estado de ferritina. En consecuencia, niveles de ferritina elevados están implicados en el pronóstico y progresión de varios desórdenes clínicos, posiblemente independientes de la relación con el estatus de hierro. En pacientes con enfermedad de Hodgkin, neuroblastoma, leucemia o carcinoma de células renales, se ha visto un incremento de los niveles de ferritina sérica, a su vez correlacionada con el estadio y actividad de la enfermedad (35).

En pacientes infectados con VIH se ha reportado una correlación negativa entre la concentración de ferritina sérica y el número de linfocitos T CD4 y CD8 (27). En adición, varios autores han propuesto que altos niveles de ferritina, contribuyen a la inmunosupresión, interfiriendo con la función de los linfocitos (7, 8). También han sugerido que los altos niveles de ferritina limitan la proliferación de linfocitos T, causan una reducción de la liberación de los linfocitos totales, e inhiben la función inmune dependiente de linfocitos (34).

Otro mecanismo frecuentemente observado, cuando existen cantidades excesivas de hierro, es que aumentan las infecciones y las neoplasias, por que el hierro sirve como nutriente a las células invasivas (35). Se ha visto que los microorganismos potencialmente patógenos no pueden sobrevivir y multiplicarse en huéspedes con concentraciones normales de hierro, a menos que sean suplidas con hierro exógeno, o se provean de uno o más mecanismos para secuestrar hierro del huésped potencial (35).

En contraste con las células normales del huésped, las células neoplásicas tienen la capacidad de secuestrar hierro a través de mecanismos tales como expresión continua de receptores de transferrina, síntesis de su propia transferrina y desviación del hierro no ligado a la transferrina en las funciones metabólicas útiles (32). Estas enfermedades no se relacionan con cataratas si no con alteraciones inmunológicas de esta manera se descarta para todas las patologías anteriores, ya que en el SHC se presentan síntomas como; catarata bilateral, de inicio temprano, no metabólica, no traumática y con una elevación severa de ferritina.

En la población mexicana no se tienen reportes del SHC, los datos conocidos están enfocados en poblaciones europeas, sin embargo se han aceptado diferentes alteraciones genéticas de poblaciones semejantes a la mexicana (6), por lo tanto resultado de sumo interés realizar este estudio en esta población para saber si este síndrome esta presente, si estas alteraciones resultarían ser iguales o no de las reportadas, esto debido a la gran heterogeneidad en la población mexicana en el gen implicado con esto podemos tener mas datos acerca de esta enfermedad que no es muy conocida, así como que los oftalmólogos puedan brindar un mejor diagnostico y una atención mas adecuada al paciente que sufra este mal que sin los cuidados oportunos por causa de la catarata, podría llegar a perder la visión.

II.- PLATEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

La catarata es una de las principales causas de ceguera curable en el mundo. El síndrome de catarata por hiperferritinemia, es una condición autosómica dominante causada por mutaciones heterogéneas en el elemento de respuesta al hierro. Se han reportado mutaciones puntuales así como pequeñas inserciones y deleciones en la región IRE causantes de SHC (5). Sin embargo este síndrome no es muy conocido ya que no existen reportes de estudios realizados de catarata por hiperferritinemia en nuestra población por lo tanto resulta de interés realizar un estudio del elemento IRE para saber si se presentan dichas alteraciones en población mexicana y si estas alteraciones son o no similares a las ya reportadas en la literatura internacional esto con el fin a largo plazo de mejorar el diagnóstico y tratamiento para este síndrome.

III.- OBJETIVO GENERAL

Identificación de las mutaciones en el elemento de respuesta al hierro de la cadena L en pacientes mexicanos con SHC.

IV.- OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Correlacionar el diagnostico clínico de catarata por hiperferritinemia con niveles elevados de ferritina en sangre.
- 2.- Identificar si existe el síndrome de catarata por hiperferritinemia en nuestra población analizando el gen implicado en esta alteración.
- 3.- Identificar las posibles mutaciones en el gen del IRE en pacientes mexicanos.
- 4.- Identificar si difieren o no a las ya reportadas en la literatura internacional.
- 5.- Reportar las mutaciones nuevas o de novo encontradas en los pacientes mexicanos.

IV.-HIPOTESIS

Se sabe que el síndrome de catarata por hiperferritinemia es una enfermedad autosómica dominante que se correlaciona con una catarata bilateral de origen temprano y niveles elevados de ferritina en sangre, existen diversas publicaciones de estas alteraciones encontradas en diferentes poblaciones en su mayoría de origen europeo, estas han sido encontradas en el gen del elemento de respuesta al hierro, sin embargo no existen hasta el momento ningún trabajo reportado de este síndrome en México por lo tanto si se realiza un estudio en esta población correlacionando la catarata bilateral de origen temprano con niveles elevados de ferritina en suero y se realiza un análisis del gen implicado entonces encontraremos alteraciones semejantes y otras distintas, debido a la gran heterogeneidad genética en esta población.

VI.- METODOLOGÍA

Generalidades:

DISEÑO DE ESTUDIO:

Se trata de una investigación prospectiva, descriptiva, transversal y analítica.

SELECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO:

Pacientes que acudan a consulta al Servicio de Oftalmología del Hospital General de México, y con diagnóstico clínico de SCH.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- a) Con diagnóstico clínico de SCH.
- b) Valores de Ferritina sérica de rangos mayores a 450 ng/ μ l L para hombre y 200 ng// μ l L o más para mujeres.
- c) Que acepten participar en el estudio con consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

A los pacientes que siendo diagnosticados clínicamente con SCH no tengan niveles elevados de ferritina en suero.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

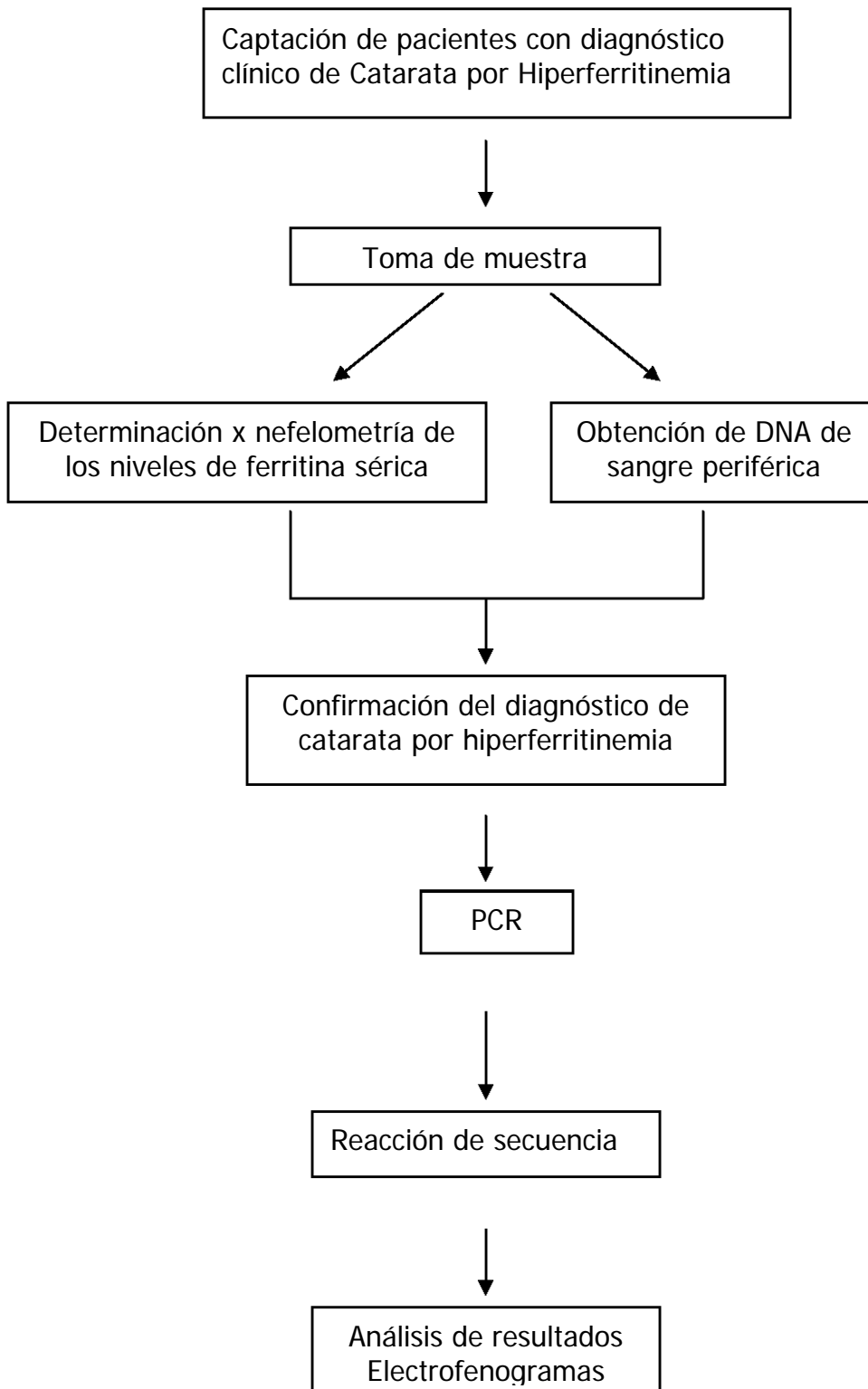
Se eliminarán aquellos casos en quienes no sea posible realizar de manera total los procedimientos requeridos en este estudio

VARIABLES

Independientes: Síndrome de catarata por hiperferritinemia

Dependientes: Mutaciones observadas en el elemento IRE

**a).- Diagrama de flujo
Metodología general**



b) Procedimiento

Con el fin de corroborar el diagnóstico clínico de catarata por hiperferritinemia en los pacientes seleccionados se les realizó la determinación de ferritina sérica de la siguiente manera: Los pacientes candidatos fueron aquellos que presentaron catarata unilateral o bilateral de inicio temprano (3^a y 4^a décadas de la vida). Se consideraron como hiperferritinemia cuando los valores fueron mayores de 450 ng/ul o más para hombre y 200 o más para mujeres en pacientes hasta de 40 años de edad (2).

Principio del Método.- Las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos específicos contra la ferritina humana al mezclarse con las muestras que tienen ferritina, forman agregados en los cuales se va a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra la valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

Grupo control.- Este grupo fue diseñado para descartar los posibles polimorfismos asociados a esta región. Se tomaron 50 controles sanos a los cuales se les explicó el proyecto, su participación fue únicamente con 5 ml. sangre periférica de la cual se extrajo el DNA para analizar el gen IRE en 100 cromosomas. Su uso fue exclusivo para este estudio y la información esta disponible para ellos en cualquier momento.

Para la identificación de la muestra se etiquetó el tubo con el número correspondiente en orden creciente de acuerdo a la recolección de las muestras se anotaron en un bitácora con los siguientes datos: Nombre completo, Fecha de nacimiento, Fecha de toma de la muestra, Institución de procedencia, Médico que solicitaba el estudio, Datos clínicos, toma de muestra sanguínea.

A cada paciente y control se le extrajeron 15 ml. de muestra sanguínea depositados en un vacutainer. Se extrajeron tres tubos los dos primeros para el estudio molecular con EDTA como anticoagulante y el tercero con SST para el estudio inmunológico de ferritina sérica. Obtención de suero. Para este fin se utilizó el tubo con SST (tubo separador de suero) se centrifugó a 3000 rpm durante 6 min. Posteriormente se separó el suero en un tubo eppendorf de 2 ml y se etiquetó con el número correspondiente y se guardó en congelador a una temperatura de -20 °C hasta que se llevó a cabo la determinación de ferritina por nefelometría.

a) Determinación de la Ferritina Serica: Se descongeló la muestra de suero y posteriormente se determinó la concentración de ferritina sérica en un nefelómetro por medio de la técnica inmunoenzimática asociada a un marcador de fluorescencia (4-metil-lumbril-fosfato). Donde las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos específicos contra la ferritina humana al mezclarse con las muestras que tienen ferritina, formaron agregados los cuales dispersaron en el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hizo por comparación con un estándar de concentración conocida. Según las instrucciones del proveedor (DADE BEHRING Test kit 3 x70 N Látex Ferritin) Una vez que se obtuvieron los resultados se seleccionan los pacientes con niveles de ferritina sérica mayores para los rangos de referencia.

b) Obtención de DNA: Para este fin se utilizaron los dos tubos con muestra con EDTA y siguiendo la técnica de Cuevas Covarrubias modificada de Bufonee y Darlington (1985) (el número de la cita) y de Kempter y Grossbadern (1992) (el número de la cita). Se transfirieron 3 ml de sangre a un tubo cónico de 15 ml y se agregó un volumen igual de amortiguador TTS (Tris-Triton-Sacarosa), el Tris con pH 7.6. Se invirtió el tubo varias veces, posteriormente se centrifugó a 3000 rpm durante 6 minutos, se decantó el sobrenadante y se le agregó al botón 1 ml de amortiguador TTS, se agitó hasta resuspender el botón y se pasó a un micro tubo de 1.5 ml, posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm/2 min en la micro centrifuga. Nuevamente se decantó el sobrenadante y se le agregó 1 ml de TTS resuspendiendo el botón este paso se repite de 2-3 veces hasta obtener el botón blanco. Una vez que se obtuvo el botón limpio se agregó 570 μ l de NaCl 5mM, se agitó 2 minutos y se colocó 30 μ l de SDS (Dodecil Sulfato de Sodio) al 10 % y se agitó durante 5 minutos, se observó si hubo consistencia viscosa y se agregó 200 μ l de NaCl saturado. Se agitó 10 minutos y posteriormente se centrifugó a 11500 r.p.m. durante 30 minutos a 4 °C, posteriormente se decantó el sobrenadante a un tubo de 13 x 100 mm estéril, se añadió 2 ml de etanol absoluto a -20 °C para precipitar el DNA. El DNA se capturó con una varilla de vidrio, y se enjuagó con etanol al 70 %, el cual se dejó evaporar en condiciones de esterilidad y posteriormente se resuspendió el DNA en un microtubo con 200 μ l de agua estéril, y se colocó en el baño maría a 60 °C durante 2 hrs.

c) Análisis espectrofotométrico (cuantificación de DNA): Este consistió en determinar la absorbancia de una dilución 1:500 de la muestra de DNA geonómico a dos longitudes de onda (260 nm y 280nm). A partir de la lectura a 260 nm (correspondiente a los ácidos nucleicos), se calculó la concentración de la muestra:

concentración de DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) = $A_{260} \times (\text{dilución})^{-1} \times 0.05$

1 D.O. $_{260} = 50 \mu\text{g}$ de DNA/ml = $0.05 \mu\text{g}/\mu\text{l}$

La cantidad total de DNA (en μg) se calcula:

μg totales de DNA = conc. ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) x volumen total (μl)

Además la relación 260/280 permitió dar la pureza del DNA con respecto a las proteínas, considerando que la lectura a 280 nm, corresponde a la fracción proteica. Una relación menor a 1.5 indica la presencia de proteínas una relación 1.8 es ideal para nuestro análisis.

d) Condiciones generales de la reacción de PCR. Para un volumen total de la reacción 25 μl contenidos en un microtubo de 200 μl . Se utilizaron las siguientes cantidades:

	DNA (250 ng)	Agua	Buffer 10x(Cl_2Mg^+)	dNTPs (1mM)	Oligo F* (100 μM) FTL5'	Oligo R* (100 μM) Lex2	Taq*
Pac.	2.5 μl	15.45 μl	2.5 μl	2.5 μl	.95 μl	0.6 μl	0.5 μl
C +	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Bco	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
	M mix	61.8 μl	8 μl	10 μl	3.8 μl	2.4 μl	2.0 μl

Nota : C+ (Control normal), C - (Control con delección), Blanco (No contiene DNA). A cada tubo se colocó 22.5 μl de la mezcla de reacción más 2.5 μl de DNA. Se utilizó un kit para PCR de Applied Biosystems. Se guardó a 4 °C ∞ .

OLIGONUCLEOTIDOS UTILIZADOS PARA EL ANALISIS DEL GEN IRE

REGION		TEMP. (°C)	(pb)
EXON 1	FTL5´F FCGGCGCACCATAAAAGAAGCC	62	632
	FTL R CTGAAGATGCAAAACCAGC		

e) Técnica de Electroforesis: Para verificar:

- 1.- Para Calidad de DNA –gel al 0.8 %.
- 2.- Para corroborar los amplicones de la PCR – gel al 1.5 %.

Se preparo TAE 10X y posteriormente se realizo una dilución para obtener TAE 1X, en un matraz Erlenmeyer se disolvió la agarosa en 50 ml de TAE 1 X (Tris, Ácido acético glacial y EDTA), calentando la mezcla en un horno de microondas (reconstituir el agua que se pierde por evaporación), se dejo enfriar la solución hasta aproximadamente templarlo se agrego 1 gota de bromuro de etidio y se dejo solidificar en el portagel colocando el peine, se lleno la cámara de electroforesis con TAE 1X, y se retiro el peine del gel con cuidado para no romper los pozos y se coloco el portagel en la cámara de electroforesis a la cual se le añadió TAE 1X hasta que se cubrió el gel. Para colocar las muestras en el gel se hizo una mezcla con el producto de PCR y con 2 µl de amortiguador de carga. Posteriormente se coloco la muestra en el pozo y se utilizo una escalera de 100 pb como referencia; una vez colocadas todas las muestras se conectaron los electrodos a la cámara y se encendio la fuente de poder a 70-85 volts. Se dejo correr la muestra durante 30 minutos. (Aproximadamente 2/3 del largo del gel de agarosa), se observo el corrimiento y la integridad de las bandas en el transiluminador de luz ultra violeta.

f) Purificación de los amplificados de PCR por QIAEX II: Los fragmentos de PCR se purificaron antes de la reacción de secuenciación para remover los dNTPs, los oligonucleótidos, las enzimas, el DNA, etc. Primero se corto la banda del gel y se peso, se coloco buffer QX1 (3 veces en volumen de acuerdo al peso) y QIAEX II 5 µl (resina), se mezclo y se agito en vortex, se incubo por 10 min. a 50 °C (mezclando la muestra por vortex cada 3 min.), se centrifugo 1 min a 10,000 rpm, se decanto y se colocaron 500 µl de buffer QX1, se centrifugo 1 min a 10,000 rpm, se decanto y se eliminaron los residuos de este buffer, se agregaron 500 µl de buffer PE, se mezclo por vortex, se centrifugo a 10,000 rpm/1 min (este paso se realizo 2 veces), se decanto y se eliminaron los residuos del buffer PE, se seco la muestra a una temperatura de 50 °C, se resuspendieron 20 µl de agua inyectable por ultimo se centrifugo 2 minutos a 10000 rpm, el sobrenadante se paso a un microtubo se cuantifico al producto en un gel de agarosa usando un marcador de peso y cantidad de (low-mass) de 100pb.

g) Reacción de secuenciación: para cada reacción, se mezcló los siguientes reactivos en un micro tubo de 200 μl previamente etiquetado:

Reactivo	Cantidad
Mezcla de reacción "BigDye Terminador"	2.0 μL
Templado Producto de PCR, 100 ng/ μL	1 μL
Oligonucleótido (10 μM)	1 μl
Agua destilada	16 μL
Volumen final de la reacción:	20 μL

VII.- RESULTADOS:

Se recolectaron muestras sanguíneas de 78 pacientes con diagnóstico de catarata por hiperferritinemia hechos por médicos con especialidad en oftalmología del Hospital General de México, durante aproximadamente un año, del mes de Enero del 2006 hasta el mes de Enero del 2007. PMSCH

Con base a los resultados mostrados en la tabla numero 1, de los 78 pacientes diagnosticados con catarata por hiperferritinemia a los cuales se les realizó la prueba de ferritina sérica se eliminaron 73 pacientes debido a que sus niveles de ferritina sérica fueron bajos o normales, y solo se encontraron cuatro pacientes con ferritina elevada observándose :

En el caso no familiar (figura 4.) que fue considerado así, por que el paciente menciona que sus padres fallecieron a una edad temprana y no recuerda si tenían o no catarata menciona también que no tiene mas hermanos y que sus familiares no padecían tampoco catarata lo que nos hace suponer que si esto es verídico, esta alteración posiblemente sea de novo para su familia, se muestra el árbol genealógico y se trata como: Caso A1: Caso no familiar

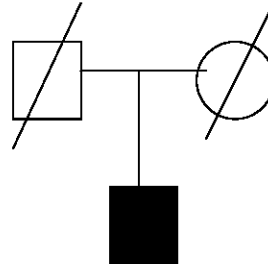
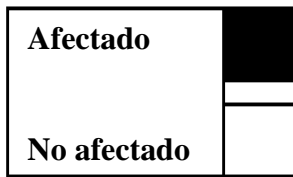


Figura 4. Se puede ver el árbol genealógico que los padres del caso: A1 o no familiar no tuvieron catarata sin embargo no se sabe a ciencia cierta esto ya sus padres murieron jóvenes y nunca tuvieron problemas de visión según comento el paciente.

El siguiente caso (figura 5.) donde reportamos otra alteración en el IRE fue un caso familiar, de este caso se logro realizar un árbol genealógico de hasta cuatro generaciones donde se lograron contactar cinco familiares que ocupan las siguientes posiciones en el árbol: II. 6, 7 III. 9 y III. 10, 11 de los cuales II. 6, 7 y III. 9 resultaron con niveles altos de ferritina serica en sangre y los pacientes II. 6, 7 resultaron con catarata bilateral, sin embargo no se descarta la posibilidad que los pacientes III. 10 y 11 a la larga lleguen a tener catarata ya que ellos resultaron con niveles no tan bajos pero tampoco sobrepasan los niveles altos de ferritina en sangre. Otro dato que aporta el árbol es que los últimos tres hijos de la segunda generación murieron por hidrocefalia.

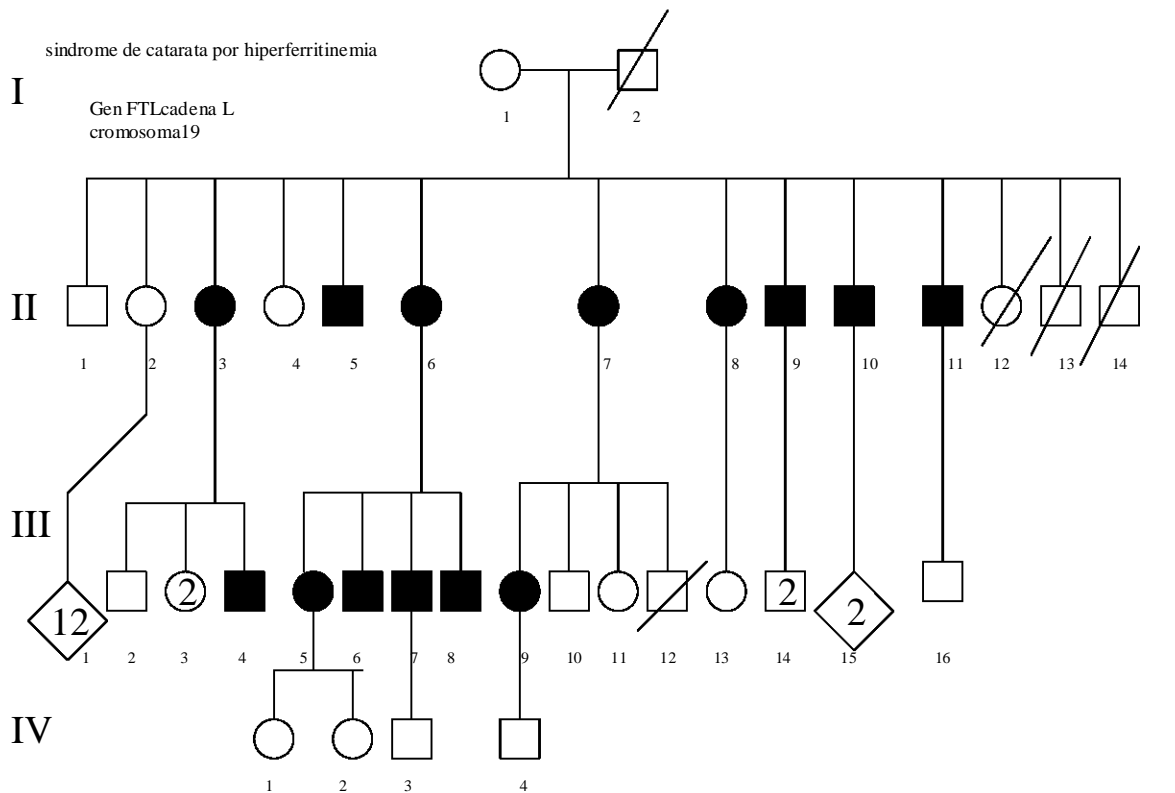


Figura 5. Caso B: Caso Familiar. La ultima generación (IV) donde aparentemente no afecta a ningún miembro la causa tal vez sea que todos son niños y adolescentes de menos de 16 años.

Una de ellas con 45 años de edad que ocupa la posición II,6 del árbol genealógico y que presento su primera catarata aproximadamente a los 35 años de edad y la segunda a los 38 años dio como resultado en la prueba inmunológica un rango de 2240 ng/ml. Por cual se procedió a hacerle el estudio genético figura 6 y 7.

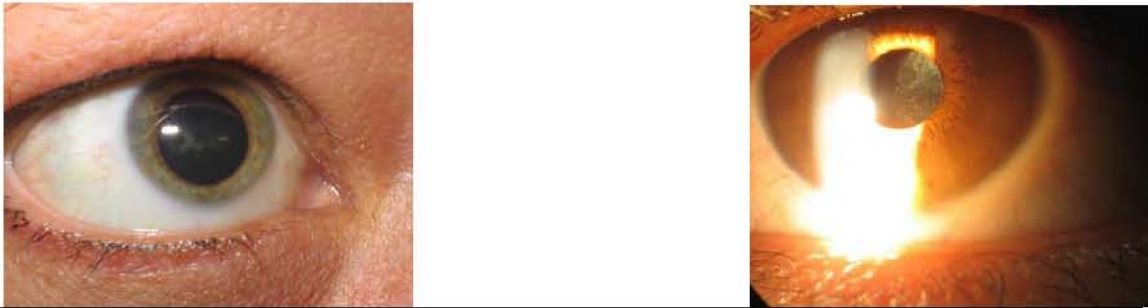


Figura 6. A) Derecha ojo de la paciente PMSCH3 y B) Izquierda foto de misma paciente donde se percibe la catarata pulverizada.

La segunda de ellas con 40 años de edad que ocupa la posición II. 7 del árbol genealógico y que presento su primera catarata aproximadamente a los 33 años de edad y la segunda a los 39 años dio como resultado en la prueba inmunológica un rango de 2,240 ng/ml de ferritina en sangre. Por cual se procedió a hacerle el estudio genético teniendo como resultado la siguiente secuencia del gen afectado. figura 10-11.



Figura 7. A) Derecha ojo de la paciente PMSCH02 con poca luz no se percibe muy bien la catarata y B) Izquierda la misma paciente con el ojo a contra luz donde se percibe una catarata pulverizada.

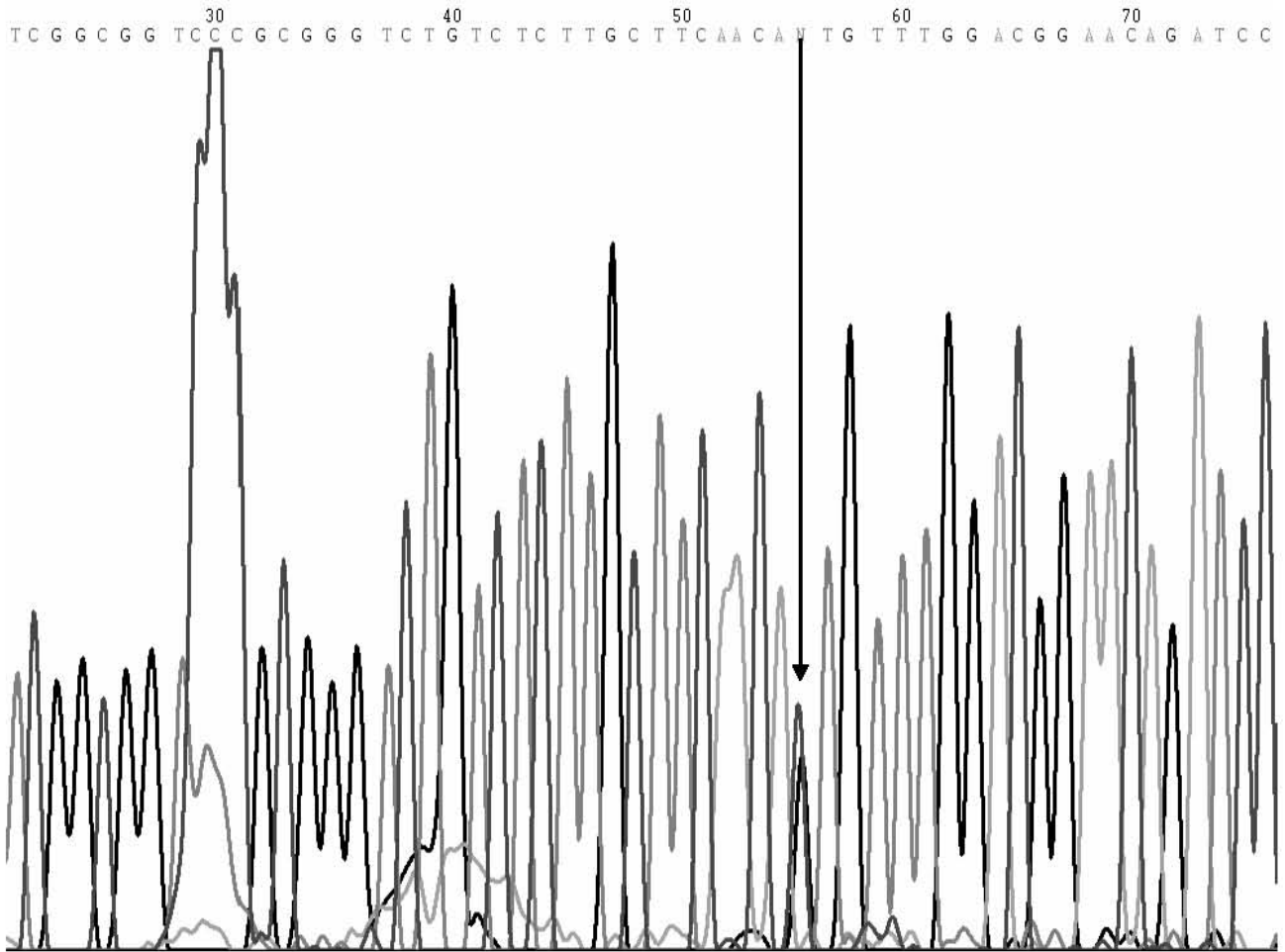


Figura 8. Electrofenograma de PMSCH65 caso no familiar. En este electrofenograma podemos ver que existe una alteración en el numero 56 donde corresponde una guanina en el gen normal y en su lugar esta una citosina esta alteración ya ha sido descrita por Guirelli (1995) Blood 86,4050 (+41)(G-C).

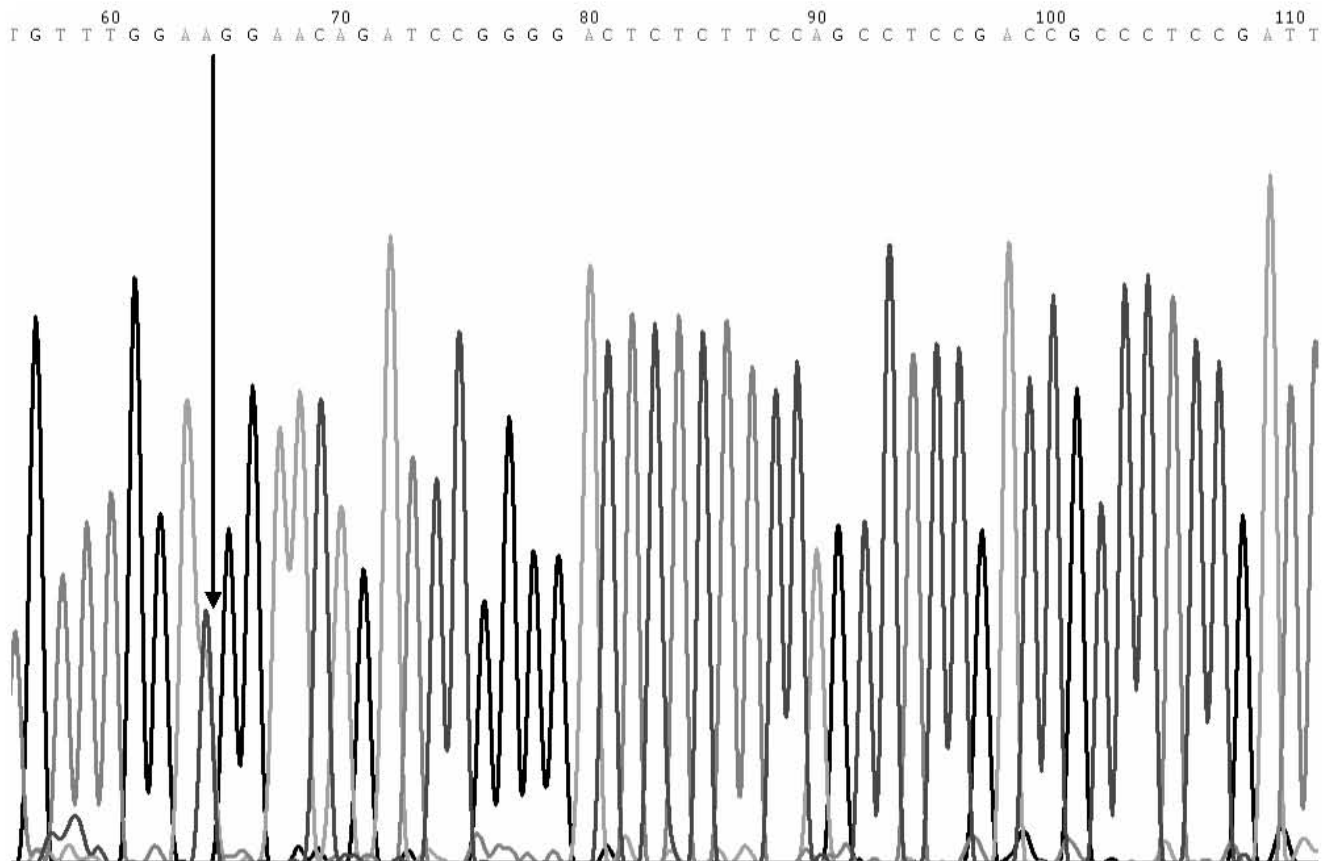


Figura 9. Electrofenograma del paciente PMSCH03 Afectado en el caso familiar, en esta figura podemos ver que existe una alteración en el numero 64 donde corresponde una citocina en el gen normal y en su lugar esta una adenina esta alteración no ha sido reportada aun en la literatura y posiblemente sea una alteración nueva.

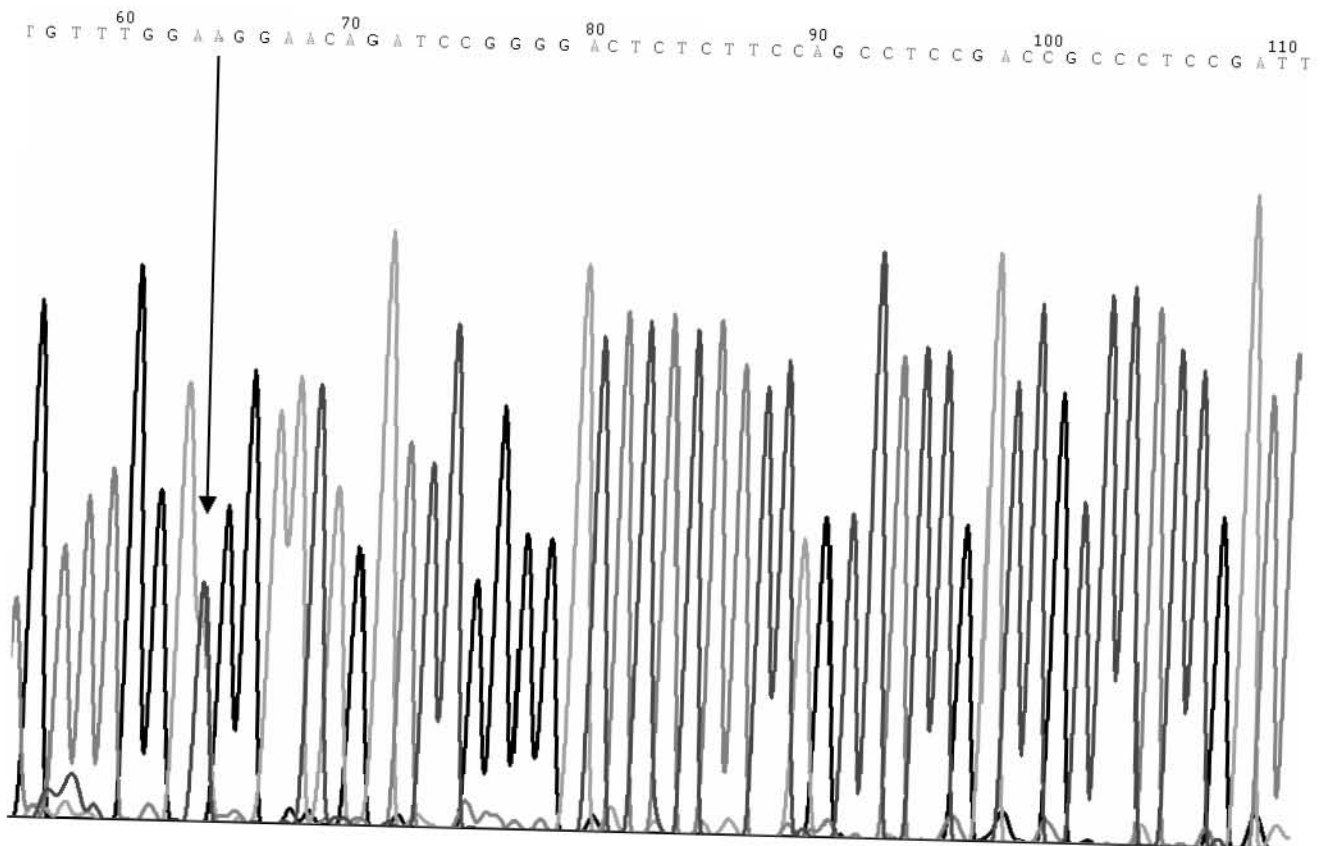


Figura 10. Electrofenograma de PMCH02 caso familiar. En este electrofenograma podemos ver que existe una alteración en el numero 64 donde corresponde una citocina en el gen normal y en su lugar esta una adenina esta alteración no ha sido reportada aun en la literatura y posiblemente sea una alteración nueva esta es la misma que presento su

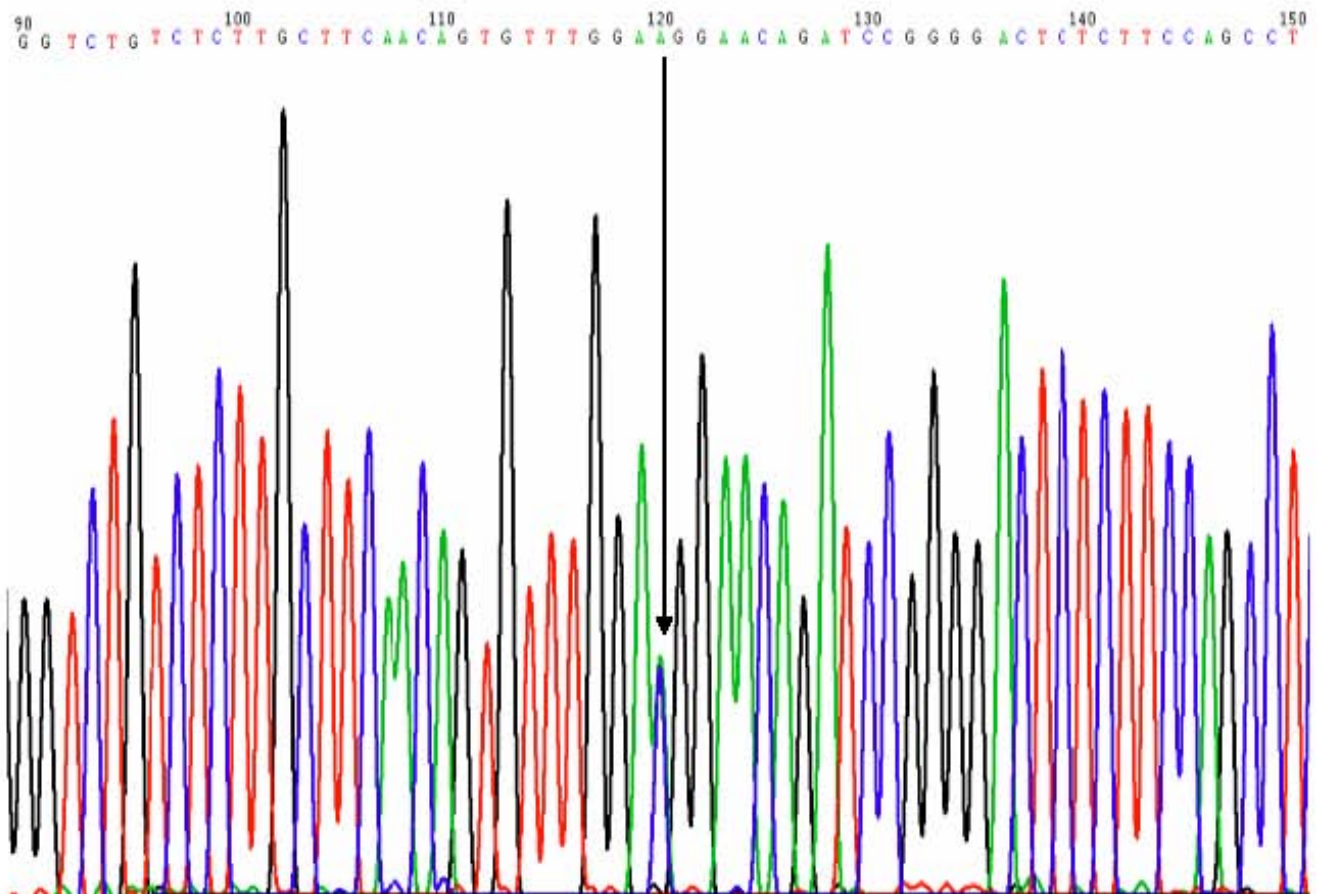


Figura 11. Electrofenograma del paciente PMSCH 71 caso familiar. En este electrofenograma podemos ver que existe una alteración en el numero 120 donde corresponde una citocina en el gen normal y en su lugar esta una adenina esta alteración no ha sido reportada aun en la literatura y posiblemente sea una alteración nueva esta es la misma que presentaron sus tías.

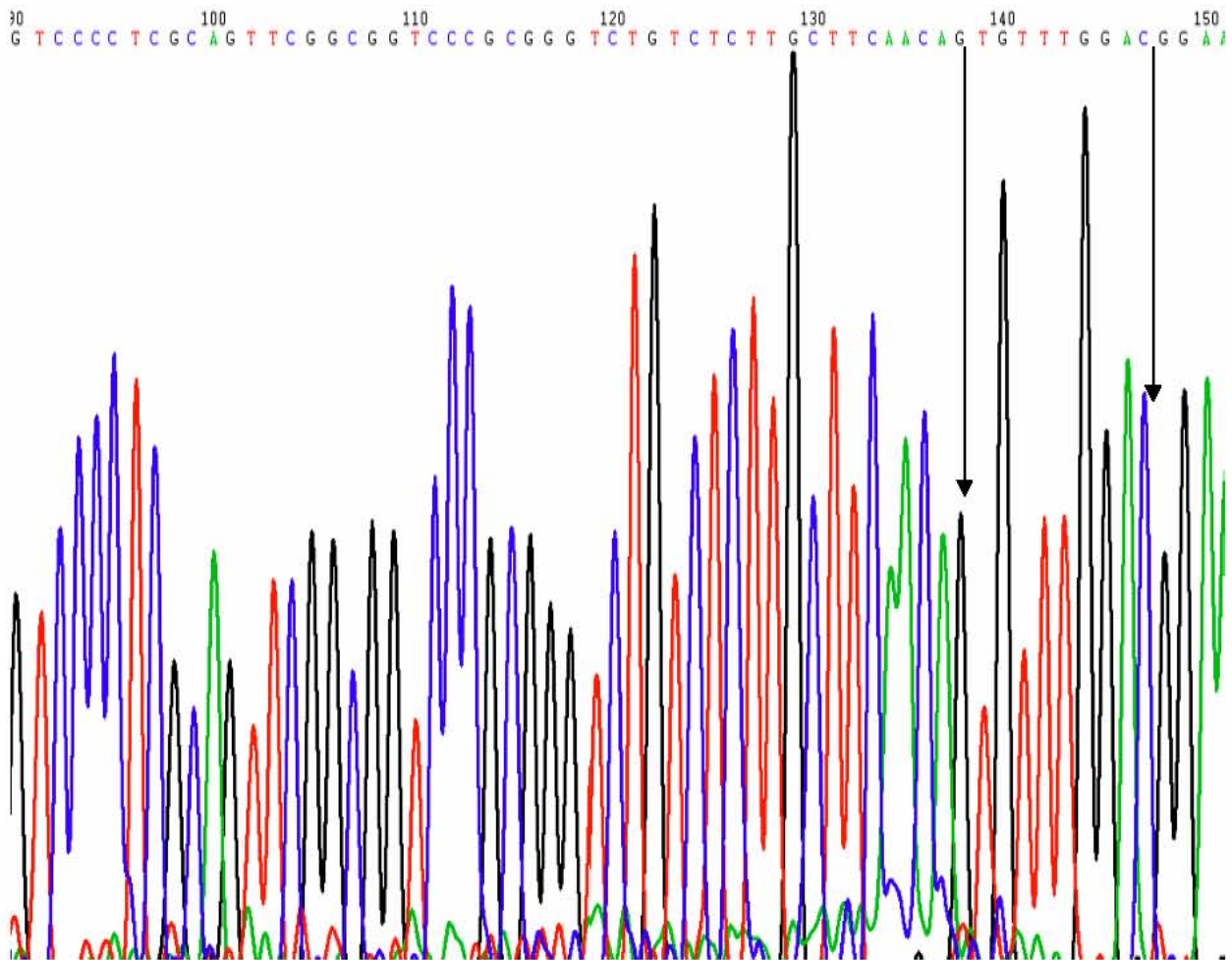


Figura 12 Electrofenograma paciente normal. En este electrofenograma podemos verificar que no existen las alteraciones ya mencionadas para ninguno de los casos anteriores la muestra fue tomada de un individuo sin catarata y con niveles normales de ferritina en suero y se muestran las bases correctas con las flechas.

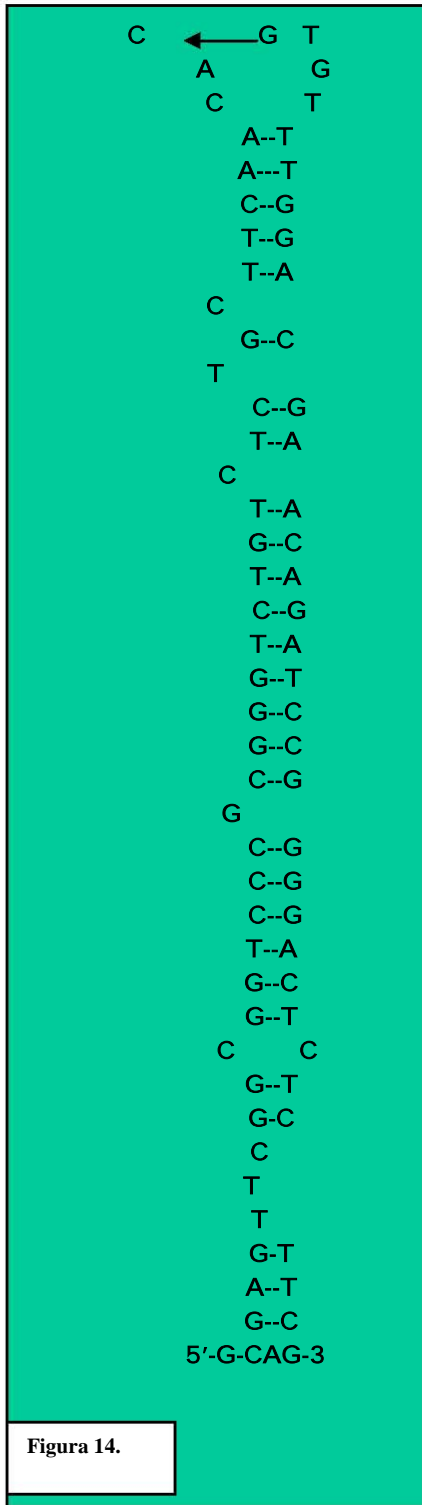


Figura 14.

Figura 13. Estructura secundaria del IRE y la mutación descrita de la familia Mexicana con síndrome de catarata por hiperferritinemia. (+50) La flecha muestra el cambio de una citosina por una adenina en la región cuesta arriba de IRE.



Figura 13.

Figura 14. Estructura secundaria del IRE y la mutación descrita del caso no familiar con síndrome de catarata por hiperferritinemia. La flecha muestra el cambio de una guanina por una citosina en la región cuesta arriba de IRE. Esta mutación ya esta reportada por Guirelli (1995) Blood 86,4050 (+41)(G-C).

Pacientes diagnosticados clínicamente con catarata por hiperferritinemia	Pacientes diagnosticados clínicamente con catarata por hiperferritinemia y con altos valores de ferritina en suero	Pacientes diagnosticados clínicamente con catarata por hiperferritinemia y con valores normales de ferritina en suero
Pacientes totales: 76	Pacientes totales: 4	Pacientes totales: 72

Tabla 1. Numero de pacientes diagnosticados clínicamente con catarata por hiperferritinemia y numero de pacientes realmente con catarata por hiperferritinemia ya diagnosticados bajo la prueba inmunológica

IX.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 1.-En este estudio reportamos que en nuestra población mexicana si existen casos de síndrome de catarata por hiperferritinemia.
- 2.- Estos casos mostraron un patrón autosómico dominante como se menciona en la literatura internacional.
- 3.- En los casos estudiados hubo una correlación de ferritina sérica elevada y una aparición de catarata precoz como se menciona en la literatura.
- 4.- Al realizar el análisis en el gen del elemento de respuesta al hierro se encontraron dos alteraciones diferentes una ya reportada por Guirelli (1995) Blood 86, 4050 (+41) (G-C), y una mutación que aun no ha sido reportada y que posiblemente sea de novo en la familia afectada.
- 5.- Es recomendable que se sigan realizando estudios de esta alteración genética para saber si existen otras alteraciones diferentes además de las reportadas en la literatura y la reportada en este trabajo.
- 6.- La relevancia e importancia de este trabajo consiste en que no existen reportes de mutaciones del SCH en poblaciones mexicanas y este trabajo puede servir como un antecedente de que esta mutación si se encuentra presente en nuestra población.

X.-Referencias

- 1.-Organización mundial de la salud tratamientos de la catarata en los servicios de atención primaria de salud, Pág. 8-15, 2000.
- 2.- <http://w.w.w/prodigyweb.net.mx/avfenix/estado> que guarda la ceguera y baja visión. Htm(pagina consultada el 12 de Junio de 2006).
- 3.-Van Heyningen V: Delopmental Eye Disease a genome era paradigm. Clin Genet 54:272, 1989.
- 4.-Graw j.caract mutations as a tool for developmentyal geneticist. Ophthalmic Res 28:8,1996.
5. - Cazzola M, Bergamaschi G, Tonon L: Hereditary hyperferritinemia_cataract síndrome:relationship betwenn phenotypes and especific mutations in the iron-responsive element of ferritin light_chain mRNA. Blood 90:814, 1997.
6. - The Human Gene Mutation Database at the Institute Of Medical Genetics in Cardiff. (HGMD) 2006.
7. - O Rahily R: the timing and secuencia of events in the developed of the human endocrine system during the embrionic period proper. Anat Embri 166:439, 1983.
- 8.-Graw J: Cataract mutations as a tool for developmental geneticist. Ophthalmic Res 28:8, 1996.
- 9.- .-Girelli D, Corrocher R, Bisceglia L, Olivieri O, Zelante L, Panozzo G: Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome caused by a 29-base pair deletion in the iron-responsive element of ferritin L-subunit gene. Blood; 90: 2084-2088, 1997.
10. - Jimenez. Vaca AL, Valdes-flores M: deletiòn pattern of the STS gene in X linked ichthyosis in a Mexican population. Mol Med 7:845, 2001.
- 11.- Girelli D, Bozzini C, Zecchina G, Tinazzi E, Bosio S, Piperno A: Clinical, biochemical and molecular findings in a series of families with hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome. Brit J Haematol; 115: 334-40, 2001.
12. - . Hetet G, Devaux I, Soufir N, Grandchamp B, Beaumont C. Molecular analyses of patients with hyperferritinemia and normal serum iron values reveal

both L ferritin IRE and 3 new ferroportin (slc11A3) mutations. *Blood*; 102: 1904-10, 2003.

13. - Ionides A, Francis P, Berry V. Clinical and genetic heterogeneity in autosomal dominant congenital cataract. *Br J Ophthalmol* 83:802, 1999.

14. - Beaumont C, Lenevue P, Devaux I et al Mutation in the iron responsive element of L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinemia and cataract. *Nat Genet* 11:444-446; 1995.

15.-Boccio J, Slgueiro J, Lysicnek A, Zubillaga M, Goldman C, Weill R: Metabolismo del hierro; Conceptos actuales sobre un micro nutriente natural, *archivos latinoamericanos de nutrición*, p.1-10, 2003.

16. - Levi S, Girelli D, Perrone F, Pasti M, Beaumont C, Corrocher R: Analysis of ferritins in lymphoblastoid cell lines and in the lens in subjects with hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome, *Blood* 91: 4180-7; 1998.

17.- Martin M.E, Fargion S, Brissot P, Pellat B Y Beamut C: A Point Mutation in the Bulge of the iron_responsive Element of the ferritin Gene in two Families with the hereditary hiperferritinemia Cataract Syndrome, *Blood* 91: 319-23; 1998.

18.- Girrelli D, Corrocher R, Bis Cwglia L oliver o, De Franceschi L, Molecular basis for the recently described hereditary hiperferritinemia cataract syndrome mutation in the iron_responsive element of ferritin L subunit gene there mutation *blood*, 86,4050:053 1995.

19. - Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ: Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Am Clin Biochem*, 35 693-708; 1998.

20. - Munford AD, Vulliamy T, Lindsay J Hereditary: Hyperferritinemia-cataract syndrome: two novel mutations in the L-ferritin iron-responsive element. *Blood* 91: 367-368, 1998.

21.- Gerald Karp, *Biologia Celular y molecular*, Editorial/M Graw-Hill, 91:367-368 1998.

22 .- Ponka P, Beaumont C, Richardson D: Function and regulation of transferrin and ferritin, *Semin Hematol* 35:35-54, 1998.

23.- Rouault T, Hediger M, Andrews N: Hemochromatosis and iron metabolism. *Gastroenterology* 116: 194-195, 1999.

- 24.- David J, Haile J, Mathias W, Hentze, Tracey A, Rouault, Joe B, Harford Y, Richard D, Kausner: Regulation of interaction of the iron-responsive RNA elements, *Molecular and cellular Biology*, 9:11 P.5055-5061, 1999.
- 25.- Leedman PJ, Stein AR, Chin WW, Rogers JT: Thyroid hormone modulates the interaction between iron regulatory proteins and the ferritin mRNA iron responsive element. *J Biol Chem* 271: 12017-12023, 1996.
- 26.- Rozman M, Vives Corrons JL, Rozman C; Hipertiroidismo, otra causa de hiperferritinemia. *Med Clin (Barc)* 99: 273, 1992.
- 27.- Ladero J, Balas A, García-Sánchez F, Vicario J, Díaz-Rubio M: Síndrome hereditario de hiperferritinemia y cataratas. Descripción de una nueva familia en España, *Rev. esp. enferm.* 96 :507-511, 2004.
28. - Bottomley S; Secondary iron overload disorders. *Semin Hematol* 35: 77-86, 1998.
29. - Ferritina como factor pronóstico en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida, órgano oficial de la sociedad Venezolana de medicina interna, 200, P. 1-10, 1999.
30. - Dinarello C: interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *N. Engl J.* 311:1413-1418, 1984.
31. - Cook JD: Defining optimal body iron. *Proc Nutr Soc* 58:489-95, 1999.
- 32.-Andrews NC: Disorders of iron metabolism. *N Engl J* ;341: 1986-95, 1999.
33. - Fuchs D, Zangerle R., Artner_ Dworzak E: Association between immune activation changes of iron metabolism and anemia in patients with HIV infection. *Eur J Haematol* , 5090-94 1993.
34. - Maury C.O, Lahdevirta J: Correlation of serum cytokine levels in human immunodeficiency virus infection. *J, Int en Med*, 227:253-357, 1990.
35. - Worwood M, Summers M, Miller F: Ferritin in blood cells from normal subjects and patients with leukemia. *BS, J Hematol*, 28:27-35, 1998.

XI.- ANEXO

XI-A PLABRAS CLAVE

ADN: Acido Desoxirribonucleico

IRE: elemento de respuesta al hierro

SCH: síndrome de catarata por hiperferritinemia

VIH: Virus de inmunodeficiencia adquirida.

PMSCH: Paciente Mexicano con Síndrome de Catarata por Hiperferritinemia.

XI-B VOCABULARIO

Catarata:

Es una opacidad del lente (cristalino) del ojo, el cual normalmente es claro y transparente, el tamaño y la forma de la opacidad del lente pueden variar.

Citocinas:

Las citocinas son una familia de moléculas cuya función más conocida consiste en regular el funcionamiento del sistema inmunológico, poniendo en comunicación a los diferentes tipos de células que forman parte de él. Se trata, pues, de un conjunto de mensajeros que portan y entregan los mensajes que dirigen la actuación de esas células, al objeto de que sea eficaz y, a la par, segura para el organismo. Una actuación mal controlada de las células que conforman el sistema inmunológico puede ocasionar graves trastornos e, incluso, producir la muerte.

Cromosoma:

Nombre de los pequeños cuerpos en forma de bastoncillos en asa en que se divide la [cromatina](#) del [núcleo celular](#) en la [mitosis](#). Cada uno de ellos se divide longitudinalmente, dando origen a dos asas gemelas iguales. Su número es constante para una especie determinada (en el hombre, 46; de ellos 44 [autosómicos](#), y 2 sexuales).

Fenotipo:

Es el conjunto de todos los caracteres trasmisibles que se manifiestan externamente en el aspecto del individuo.

Ferritina serica:

Esta proteína es especializada en el almacenamiento del hierro, constituye la principal forma de depósito de hierro en el hígado, bazo y medula ósea. La procedencia de la ferritina serica se sabe es de origen reticuloendotelial. Los niveles sericos de ferritina son proporcionales al hierro molecular e inversamente proporcionales a la transferrina.

Gen:

Es la unidad básica de herencia de los seres vivos. Es una secuencia lineal de [nucleótidos](#) en la molécula de [ADN](#) (o ARN en el caso de algunos virus), que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con

función celular específica. Esta función puede estar vinculada al desarrollo o funcionamiento de una función fisiológica normal. El gen es considerado como la unidad de almacenamiento de información y unidad de herencia al transmitir esa información a la descendencia. Los genes se disponen, pues, a lo largo de cada uno de los cromosomas. Cada gen ocupa en el cromosoma una posición determinada llamada locus. El conjunto de cromosomas de una especie se denomina genoma.

Gen dominante:

En genética este término se refiere al alelo que se manifiesta en un fenotipo, tanto si se encuentra en dosis doble, habiendo recibido una copia de cada padre como en dosis simple, en la cual uno solo de los padres aportó el alelo dominante en su gameto, se representa con una letra mayúscula.

Gen autosómico dominante:

En el caso de genes autosómicos dominantes, un solo gen anormal en uno de los cromosomas autosómicos (uno de los primeros 22 cromosomas sin sexo) de cualquiera de los padres puede causar la enfermedad. Según este esquema de herencia, uno de los padres tendrá la enfermedad, ya que es dominante, y esa persona se llama PORTADOR. Sólo se necesita que uno de los padres sea portador para que el niño herede la enfermedad.

Genotipo: Es el conjunto de todos los caracteres transmisibles, que vienen fijado en los genes.

Hematocromatosis:

Se le llama al envenenamiento del hierro por un exceso de hierro libre en el cuerpo.

Herencia Genética:

Es la transmisión a través del material genético contenido en el núcleo celular, de las características anatómicas, fisiológicas, etc. de un ser vivo a sus descendientes.

Hierro:

El hierro es un elemento químico es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, representando un 5%, es uno de los elementos más importantes del Universo, el hierro se encuentra en prácticamente todos los seres vivos y cumple numerosas y variadas funciones. Hay distintas proteínas que contienen el grupo hemo, que consiste en el ligando porfirina con un átomo de hierro. Algunos ejemplos: La hemoglobina y la mioglobina; la primera transporta oxígeno, O₂, y la

segunda lo almacena, los citocromos; los citocromos c catalizan la reducción de oxígeno a agua. Los citocromos P450 catalizan la oxidación de compuestos hidrofóbicos, como fármacos o drogas, para que puedan ser excretados, y participan en la síntesis de distintas moléculas, las peroxidasas y catalasas catalizan la oxidación de peróxidos, H₂O₂, que son tóxicos, las proteínas de hierro/azufre (Fe/S) participan en procesos de transferencia de electrones. También se puede encontrar proteínas en donde átomos de hierro se enlazan entre sí a través de enlaces puente de oxígeno. Se denominan proteínas Fe-O-Fe.

Idiotipo:

Es el conjunto de posibilidades de manifestar un carácter que presenta un individuo.

Lactoferrina:

Es una proteína presente en el moco, leche, saliva, vesícula seminal, mucosa endometrial. Ausente en el suero, posee capacidad de vehicular al hierro (Fe). Ejerce un efecto bacteriostático al competir con el Fe sobre los microorganismos dependientes del Fe como el *Staphylococcus aureus*, la transferrina sérica y la lactoferrina son semejantes. La diferencia radica en que el complejo lactoferrina-Fe es más estable que el transferrina-Fe a pH ácido. Esto es de poca importancia en condiciones fisiológicas, pero sí de gran valor ante la inflamación, donde el pH del tejido disminuye. Ambas intervienen en el metabolismo del hierro con funciones de transporte, participando en la absorción del metal a nivel de la mucosa intestinal y su conducción a la célula eritropoyética.

Leucemia:

Enfermedad maligna caracterizada por la proliferación anormal de elementos celulares originados en los glóbulos blancos (leucocitos). Como resultado, se produce el reemplazo del tejido normal por células cancerosas, con disminución de la capacidad inmunológica.

Mutaciones:

Es una alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo y que, por lo tanto, va a producir un cambio de características, que se presenta súbita y espontáneamente, y que se puede transmitir o heredar a la descendencia. La unidad genética capaz de mutar es el gen que es la unidad de información hereditaria que forma parte del ADN. En los seres multicelulares, las mutaciones sólo pueden ser heredadas cuando afectan a las células reproductivas.

Mutaciones puntuales: Mutaciones moleculares o puntuales:

Son las mutaciones que ocurren al alterar la secuencia de nucleótidos del ADN.

Mutación por sustitución de bases:

Se producen al cambiar la posición de un nucleótido por otro, por ejemplo, donde debería haber un nucleótido de citocina, se inserta uno de timina.

Mutación por pérdida de nucleótidos o delección:

En la secuencia de nucleótidos se pierde un nucleótido.

Mutación por inserción de nuevos nucleótidos:

Dentro de la secuencia del ADN se introducen nucleótidos que no deberían estar.

Mutación por inversión de nucleótidos:

Se producen giros de 180 grados, es decir dos segmentos de nucleótidos de hebras complementarias se invierten y se intercambian.

Nucleótido:

Es un compuesto monomérico formado por una base nitrogenada, un azúcar de cinco átomos de carbono (pentosa) y ácido fosfórico.

Proteínas:

Del griego *pton*, primero, son macromoléculas de masa molecular elevada, formadas por cadenas lineales de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídico, pueden estar formadas por una o varias cadenas peptídicas, son biomoléculas formadas básicamente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Suelen además contener azufre y algunas proteínas contienen además fósforo, hierro, magnesio o cobre, entre otros elementos, se considera proteína cuando supera la unión de 100 aminoácidos.

TRANSFERRINA:

Esta proteína es especializada para transportar el hierro dentro del cuerpo. La transferrina procede de la síntesis hepática y tiene una vida media plasmática de 8 días.

VI-C ASPECTOS ETICOS

Se extenderá carta de consentimiento a los pacientes y/o tutores. Se les explicara claramente las características y riesgos de estudio y su aceptación o rechazo no desmeritara la calidad de su atención medica . El riesgo es menor al mínimo ya que solo consistirá en la toma de muestra de sangre que por otro lado es requerida para sus estadios preoperatorios.

La información obtenida será proporcionada a lo s pacientes en cualquier momento cuando ellos lo soliciten.

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Yo _____ como paciente tutor del mismo, acepto en forma voluntaria participar en el proyecto de investigación: ***ASPECTOS GENOMICOS DE LA CATARATA CONGENITA Y EFECTO DE LA EXPRESIÓN GENICA IN SITU EN LA FORMACIÓN DE LA CATARAT SEÑIL Y CATARATA POR HIPERFERRITINEMIA***, que se llevara a cabo en el servicio de Genética del Hospital General de México, O.D.

He sido informado de las características del estudio, que consistirá en la obtención de 15 a 20 ml. de sangre venosa periférica mediante punción venosa.

Podremos presentar molestias mínimas relacionadas con la toma de la muestra., un probable hematoma (moretón ligero).

Es también de nuestro conocimiento que el hecho de rehusar el estudio, no modificara la calidad de atención que mis parientes y yo recibamos en este hospital.

ATENTAMENTE

Nombre _____

Dirección _____

P. de biología: Juárez Solís Aide Leticia.

Diagnostico de ferritina.- La concentración de ferritina serica esta directamente relacionada con las reservas de hierro en el sistema retículo endotelial, de tal manera que su determinación sirve para diagnosticar y controlar las deficiencias y sobre cargas de hierro (24-26). Ya que una deficiencia de hierro se puede determinar antes que aparezca una anemia, por eso es muy importante su diagnostico, con el fin de ayudar a evitar una anemia por desnutrición (24).

Además, la determinación de la ferritina serica apoya la diagnosis diferencial de enfermedades con sobre carga de hierro, por ejemplo; hemocromatosis, y sirve para el control de sangrías terapéuticas (25).

En inflamaciones crónicas, infecciones, neoplásicas y en insuficiencia renal crónica se encuentra un aumento del nivel de la ferritina serica. En combinación con la determinación del receptor soluble de transferrina (sTfR) se aumenta la especificidad de la determinación de la ferritina (24-26)

XII d).TABLA 2. PACIENTES DIAGNOSTICADOS CLÍNICAMENTE CON CATARATA POR HIPRFERRITINEMIA.

#	Nombre	Edad (años)	clave	Rango ng/L	fecha
1	Rodrigues Castro Francisco	35	PMSCH1	1.8	14 Feb 06
2	Sánchez García Guillermina	40	PMSCH2	1220	16 Feb 06
3	Sánchez García Oralia	45	PMSCH3	2160	17 Feb 06
4	González Magallan Félix	53	PMSCH4	202	22 Feb 06
5	Medina García Esteban	25	PMSCH5	122	23 Feb 06
6	Santiago Santiago Esperanza	76	PMSCH6	147	27 Feb 06
7	Ordaz Santiago Elia	49	PMSCH7	158	27 Feb 06
8	Trejo Barrera Ángel	55	PMSCH8	1.8	01 Mar 06
9	Torres Contreras Berta	42	PMSCH9	1.8	02 Mar 06
10	Silva Hernández Jacinta	48	PMSCH10	44.2	03 Mar 06
11	Martínez Islas Andrea	42	PMSCH11	1.8	03 Mar 06
12	Aguilar Méndez Filiberto	56	PMSCH12	32.9	03 Mar 06
13	Valdez Vergara Alfonso	69	PMSCH13	31.2	03 Mar 06
14	Valencia Salinas Antonio	47	PMSCH14	13.8	03 Mar 06
15	García Núñez Maria de Lourdes	56	PMSCH15	1.8	03 Mar 06
16	Ríos García Valentona	45	PMSCH16	7.6	09 Mar 06
17	López Pérez Nubia	31	PMSCH17	10.6	09 Mar 06
18	García Huerta Cruz	42	PMSCH18	1.8	09 Mar 06
19	Campos Santos Carla	19	PMSCH19	24.7	09 Mar 06
20	Ruiz Rafael Gloria	35	PMSCH20	31.5	14 Mar 06
21	Valencia Salinas Antonio	43	PMSCH21	21.1	14 Mar 06
22	Villalobos Sánchez Soledad	43	PMSCH22	52.3	14 Mar 06
23	Rodríguez Sandoval Luis	77	PMSCH23	8.9	17 Mar 06
24	Pérez Tovar Rodolfo	62	PMSCH24	28.4	20 Mar 06
25	De Jesús Luis Delfina	68	PMSCH25	75	20 Mar 06
26	López Acosta Lorenza	48	PMSCH26	199	22 Mar 06
27	Hernández Martínez Crecencia	42	PMSCH27	24.6	22 Mar 06
28	Morales Rodríguez Javier	29	PMSCH28	149	28 Mar 06
29	Sánchez Esquivel Ma. Prudencia	39	PMSCH29	3	29 Mar 06
30	Bernardo carvajal Miguelina	35	PMSCH30	56	30 Mar 06
31	Martínez Feliciano Alicia	19	PMSCH31	32	30 Mar 06
32	De Jesús Cruz Delfina	62	PMSCH32	24	30 Mar 06
33	Ríos García Hermila	49	PMSCH33	12.3	04 Abr 06
34	Reyes Pachuqueña Florentina	36	PMSCH34	7.3	05 Abr 06
35	García Araujo Maria de La Cruz	29	PMSCH35	8	11 Abr 06
36	Díaz Vallejo Alejandra	45	PMSCH36	27.4	11 Abr 06
37	Ramón Arteaga Antonio	53	PMSCH37	35	19 Abr 06

38	Camacho Valentín Andrés C.	28	PMSCH38	12.2	19 Abr 06
39	Cecilia Galván José	27	PMSCH39	11.5	05 May06
40	Zopeltatl Mora Gerardo	41	PMSCH40	45	11 May 06
41	Varga silva Maria del rosario	37	PMSCH41	12	17 May 06
42	Barón Peralta Endeliberto	57	PMSCH42	6	06 Jun 06
43	Torres Fuentes Maximino	42	PMSCH43	1.4	15 Jun 06
44	Bernal López Eulogio	52	PMSCH44	29	21 Jun 06
45	Salvador Cisneros Ramírez	42	PMSCH45	4.1	04 Jul 06
46	Roberto Aboytes Velásquez	42	PMSCH46	12.7	06 Jul 06
47	Felipe quintana González	41	PMSCH47	5.4	18 Jul 06
48	Duran Duran Emilio	30	PMSCH48	3.4	20 Jul 06
49	Lourdes Zarco Castillo	23	PMSCH49	2.7	27 Jul 06
50	Torres Adán patricia	44	PMSCH50	8.3	01 Ago 06
51	Hernández López Encarnación	44	PMSCH51	31.56	04 Ago 06
52	Morales Velásquez carolina	45	PMSCH52	64.2	08 Ago 06
53	Sánchez Chamorro Maria Elena	36	PMSCH53	4.5	16 Ago 06
54	Ledesma Grafías Guadalupe	47	PMSCH54	10.5	13 Sep 06
55	Martines Colorado Mañuela	47	PMSCH55	7.9	21 Sep 06
56	Ramírez Santiago victoria	58	PMSCH56	3.5	25 Sep 06
57	Enriqueta García Martínez	32	PMSCH57	8.9	28 Sep 06
58	Galván José Cecilia	27	PMSCH58	3.9	02 Oct 06
59	Sánchez Hinojosa Florencia	38	PMSCH59	7.3	05 Oct 06
60	Sánchez Domínguez Guillermo	17	PMSCH60	4.5	08 Oct 06
61	Sánchez García Oralia	45	PMSCH	3.8	18 Oct 06
62	Sánchez García Judit	8	PMSCH61	44.5	26 Oct 06
63	Sánchez García Guillermina	41	PMSCH	1540	30 Oct 06
64	Oviedo Guzmán Benito	41	PMSCH62	301	06 Nov 06
65	Chavarria Flores Alejandro	38	PMSCH63	52.2	06 Nov 06
66	López Ramos José Antonio	36	PMSCH64	53.3	08 Nov 06
67	De la Cruz Hernández Gelacio	21	PMSCH65	2230	14 Nov 06
68	Arredondo Contreras Aurora	28	PMSCH66	268	18 Nov 06
69	Lazcano Mendoza Juan	54	PMSCH67	604	22 Nov 06
70	Rubí Zúñiga Lucia	34	PMSCH68	28.7	23 Nov 06
71	Alonso Hernández Leonor	23	PMSCH69	31.5	05 Dic 06
72	López Alonso Laura	22	PMSCH70	47.3	08 Dic 06
73	Sánchez García Laura	26	PMSCH71	1180	09 Ene 07
74	Sánchez García Carlota	49	PMSCH72	27.4	11 Ene 07
75	Carreto López Rubén	53	PMSCH73	99.7	17 Ene 07
76	Mondragón López Oliverio	43	PMSCH74	13.3	18 Ene 07
77	Chávez Herrera Carla	37	PMSCH75	15.3	24 Ene 07
78	Pérez Sánchez Guillermina S	45	PMSCH76	3.5	30 Ene 07
79	Sagrado Ocampo Marcelino	45	PMSCH77	7.3	07 Feb 07
80	Hernández Hernández Elizabeth	21	PMSCH78	11.5	13 Feb 07