



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA
“FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA”

**“CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y
GENÉTICAS DE LAS DISTROFIAS
CORNEALES LIGADAS AL GEN TGFBI”**

TESIS DE POSGRADO
Para obtener la especialidad en
OFTALMOLOGÍA

Presenta
Dr. Vicente Jesús Correa Gómez

Director
Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz



México D.F.

2010



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.

Índice

Resumen.	3
Introducción.	4
Objetivos.	6
Justificación.	6
Métodos.	7
Criterios de inclusión.	8
Criterios de exclusión.	8
Criterios de eliminación.	8
Resultados.	9
Discusión.	16
Conclusiones.	19
Bibliografía	20

Resumen:

Objetivo: Determinar las características clínicas-genéticas de las distrofias corneales estromales (DCE). Muestra: Casos índices con DCE captados en el Instituto de oftalmología “Fundación Conde de Valenciana” de julio 2006 a julio 2010. Material y método: Evaluación clínica, exploración oftalmológica y análisis molecular que incluye extracción de DNA, amplificación por PCR de los exones 4,11,12,13 y 14 del gen TGFBI y secuenciación de estos exones. Resultados: Se incluyeron 19 casos índice: 7 tuvieron diagnóstico de DC lattice, 5 de DC granular, 2 de DC Avellino, 2 de DC amiloide polimórfica, 2 de DC Reiss-Bucklers y 1 de DC granular atípica. Se identificaron 6 mutaciones del gen TGFBI en este grupo de pacientes: Val113IGli, Met502Val, Ala545Asp, Leu550Pro, Arf555Trp e His626Arg. Val113IGli, Leu550Pro y Met502Val son mutaciones nuevas no descritas previamente en otras poblaciones. Conclusiones: Este es el primer estudio sobre la caracterización genética de las DC ligadas al gen TGFBI en una muestra amplia de pacientes Mexicanos. Se demostraron nuevas mutaciones, se identificó un espectro mutacional distinto, se demostró que una misma mutación puede ocasionar diferentes fenotipos y que la asociación de dos mutaciones en un paciente puede originar fenotipos atípicos.

Introducción

Las distrofias corneales (DC) son enfermedades determinadas genéticamente en donde se observa una opacificación de alguna de las capas de la cornea y por lo consiguiente disminución la transparencia y baja visual. (1). Las DC son frecuentemente enfermedades bilaterales que inician en las primeras dos décadas de la vida y mantienen variaciones en la expresión clínica (2,3). Los individuos afectados manifiestan una sensibilidad corneal disminuida y sensación de cuerpo extraño (si se asocia a erosiones corneales), halos de luz y una disminución progresiva de la agudeza visual entre la tercera y quinta década de la vida. La mayoría de las DC reconocidas hasta hoy mantienen un patrón autosómico dominante con un alto grado de penetrancia (4). El número de DC que afectan el estroma y la capa de Bowman provienen de una mutación heterocigota en TGFBI que es un gen que se expresa en el epitelio corneal (5) y también en muchos otros tejidos extraoculares (6) y se encuentra ubicado en el cromosoma 5q31 (5). En la actualidad han sido identificadas 6 fenotipos distintos de DC asociados a mutaciones en TGFBI: (I) DC Granular, (II) DC Lattice (DCL) ,(III) DC Reis-Bucklers (DCRB o DC Granular tipo III), (IV) DC Thiel-Behnke (DCTB o DC Bowman tipo II), (V) CDG tipo 2 o Avellino. (VI) Amiloide polimórfica (7, 8,9). Depósitos extracelulares y agregados de proteínas insolubles, amiloide y/o hialinos son los datos característicos de las enfermedades hereditarias causadas por mutaciones del TGFBI.

DC estromales son clasificadas de forma habitual de acuerdo con la distribución de los depósitos en la biomicroscopía. DC Granular y Lattice son las dos DC más

comunes de diagnosticar y son subdivididas en muchos tipos diferentes según la edad de inicio, características fenotípicas específicas de los depósitos y el modelo de transmisión hereditaria, entre otras características particulares. (9,10).

Estudios histopatológicos de tejido corneal de pacientes con DC ligadas a TGFBI han demostrado depósitos hialinos (en DC Granular), amiloide (en DC Lattice) o una combinación de ambos materiales (en DCG tipo II) (11). Actualmente la razón de porque mutaciones de TGFBI causan depósitos amiloide mientras que otras forman depósitos amiloide no está del todo claro.

Alrededor de 35 diferentes mutaciones que causan DC del estroma y/o capa de Bowman han sido identificadas en el gen TGFBI en pacientes de diferentes países (9,12,13). Dos Hot spots (regiones donde se encuentran la mayoría de las mutaciones) que corresponde al residuo arginina en la posición 124 y 555, son los sitios más frecuentes de mutaciones en varias poblaciones estudiadas y se ha estimado que en estos hot spots se encuentran más del 50% de las mutaciones en todas las DC estudiadas (9). Una aparente relación genotipo-fenotipo ha surgido de estos estudios moleculares, distintas mutaciones recurrentes heterocigotas son asociados con 4 fenotipos específicos: p.R555W en DCG tipo I, R124C en DCL tipo I, R124H en DCG tipo 2 y R555Q en DCTB (4,9,8). Sin embargo no hay que olvidar que la mayoría de los estudios de las DC ligadas a TGFBI han sido realizadas en poblaciones caucásicas u orientales y no se conoce si esta correlación se conserva en pacientes de diferentes grupos étnicos. La caracterización molecular de grupos grandes de pacientes con DC provenientes de diferentes grupos étnicos es muy importante para establecer la relación actual

del gen *TGFBI* en poblaciones específicas, así como para detectar nuevas mutaciones y nos permitirá realizar una clasificación clínica-molecular mas especifica. En este estudio presentamos los resultados del análisis clínico y genético de un grupo de 19 probandos de origen Mexicano con el diagnostico de DC estromal o DC de Bowman. Nuevas mutaciones y correlaciones genotipo-fenotipo no reconocidas fueron identificadas en esta población.

Objetivos

Identificar los tipos de distrofias corneales hereditarias más frecuentes, así como sus características clínicas, localizar los defectos genéticos específicos del gen *TGFBI* que originan distrofias corneales y establecer una correlación entre las alteraciones moleculares de *TGFBI* y el fenotipo corneal causado por esas anomalías genéticas.

Justificación

A pesar de que existe una aparente correlación entre mutaciones específicas de *TGFBI* y el fenotipo corneal resultante, la mayoría de los estudios se han realizado en poblaciones caucásicas u orientales y se desconoce si en pacientes de grupos étnicos distintos se conserva esta correlación genotipo-fenotipo.

Métodos

Evaluación clínica: El estudio fue realizado conforme a la declaración de Helsinki y con la previa aprobación del comité de ética e investigación del instituto de oftalmología “Fundación Conde de Valenciana”. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes. Se realizó una exploración oftalmológica completa de cada sujeto afectado que incluirá, biomicroscopía, y funduscopía bajo dilatación. Se interrogó a los participantes sobre información genealógica incluyendo el lugar de nacimiento y fueron excluidos pacientes con un probable parentesco. Defectos somáticos extraoculares o anomalías fueron investigados por genetistas clínicos. Del mismo modo se evaluaron a familiares de primer y segundo grado para determinar su status clínico.

Estudio genético molecular.- El DNA fue obtenido de leucocitos de sangre periférica siguiendo la técnicas estándar. Inicialmente, el análisis genético incluyó la amplificación por PCR de los exones 4, 11, 12, 13 y 14 del gen TGFBI usando cinco pares de primers: 4F:5'-TCC CTC CTT CTG TCT TCT GC-3', 4R:5'AGA CTC CCA TTC ATC ATG CC-3'; 11F: 5' – CTC GTG GGA GTA TAA CCA GT-3', 11R:5'- TGG GCA GAA GCT CCA CCC GG-3'; 12F:5'-AAA TAC CTC TCA GCG TGG TG-3', 12R:5'-TCA ATC CTT GAT GTG CCA AC-3'; 13F:5'-CCT CCT TGA CCA GGC TAA TTA C-3', 13R:5'-GGC TGC AAC TTG AAG GTT GTG-3'; y 14F:5'-CTG TTC AGT AAA CAC TTG CT-3', 14R:5'-CTC TCC ACC AAC TGC CAC AT-3'). Cada 25 µl de la reacción de PCR contenía buffer 1x PCR, 100-200 ngs de DNA genómico, 0.2 mM MgCl₂. Los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1.5% de donde las bandas de los productos amplificados

fueron seleccionados y purificados con ayuda del kit Qiaex (Qiagen, Hilden, Germany). Se realizó una secuenciación directa con el kit BigDye terminator (Applied Biosystems Foster City, CA) se adicionó 10ng del DNA templado en cada reacción y se usó una temperatura programada la que incluía 25 ciclos con una temperatura de desnaturalización de 97° por 30s, alineamiento a 50° por 15s y extensión a 60° por 4min. Todas las muestras fueron analizadas en ABI Prism 310 (Applied Biosystems). En todos los casos, las secuencias sentidos y antisentidos fueron analizados y se corroboraron los cambios presuntivos. La secuencia del gen TGFBI fue determinada usando la base Ensembl (www.ensembl.org transcript ID ENST00000305126). El gen TGFBI se analizó en familiares de primer grado independientemente de su status clínico.

Criterios de inclusión

- Sujetos con diagnóstico por biomicroscopía de distrofia corneales estromales
- Sujetos que acepten realizarse el estudio genético y firmen la hoja de consentimiento informado.

Criterios de Exclusión:

- Sujetos con una asociación con síndromes oculares o extraoculares.

Criterios de Eliminación

- Sujetos que en los cuales no hubo un seguimiento del fenotipo con documentación fotográfica.

Resultados

Un total de 19 casos índices captados en el Instituto de oftalmología “Fundación Conde de Valenciana” de julio 2006 a julio 2010 (10 femeninos / 9 masculinos) fueron incluidos en el estudio. El rango de edades fue de 26 a 76 años. El fenotipo corneal en todos los pacientes fue corroborado a la exploración con la lámpara de hendidura y documentado fotográficamente.

Seis de los 19 pacientes fueron diagnosticados con DC Lattice, 4 pacientes presentaron la típica DC granular. Tres exhibieron fenotipos atípicos, 2 presentaron CDG tipo 2 o Avellino, 2 DC amiloide polimórfica y 2 pacientes con el diagnóstico de DC de Reis-Bucklers. De los 6 pacientes afectados con la DC Lattice, cinco pacientes (#14 – 17) presentaron opacidades corneales bilaterales y simétricas caracterizadas por numerosas y finas líneas translucidas en empalizada en estroma superficial y medio, mientras que un caso (#18) presentó la afectación asimétrica, con un ojo significativamente más afectado.

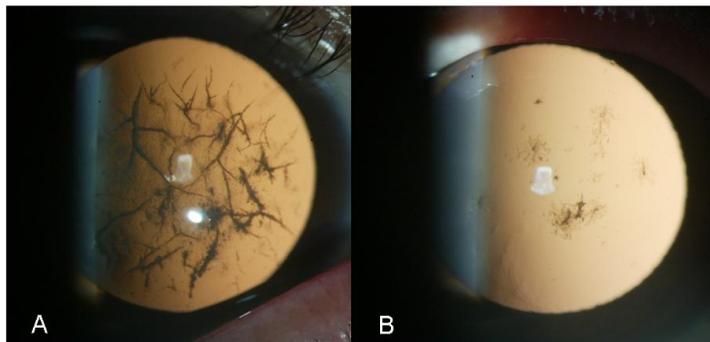


Figura 1.- Distrofia corneal de Lattice asimétrico. La fotografía de la córnea del paciente #17 demuestra las líneas en empalizada o Lattice grueso en la córnea central y periférica (A) con pequeños depósitos contralaterales (B)

Cuatro pacientes (#4-7) presentaron la típica DC granular , que está caracterizada por demarcadas opacidades centrales en forma de hojuela de maíz o copo de nieve , con estroma claro entre las lesiones. Dos pacientes (#9 y #10) presentaron depósitos corneales típicos de DCG tipo 2, con discretas lesiones en empalizada bilaterales y simétricas en la periferia que se alterna con lesiones granulares en el centro de la cornea a nivel de estroma medio

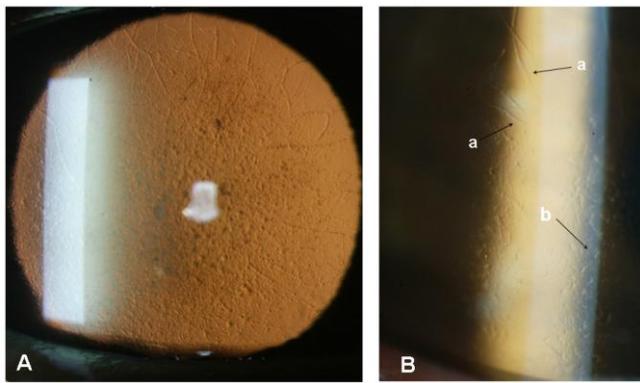


Figura 2.- Fenotipo corneal de pacientes con mutación en L550P TGFBI. (A) El paciente #9 exhibió un patrón fino de lattice o empalizada en la periferia combinada con las lesiones centrales polvorientas. (B) Biomicroscopía del paciente #10 que demuestra líneas de lattice (a,) y depósitos granulares (b,) en el estroma.

El análisis histopatológico al momento de la queratoplastia penetrante en el paciente # 10 confirmó el diagnostico de GCG tipo 2.

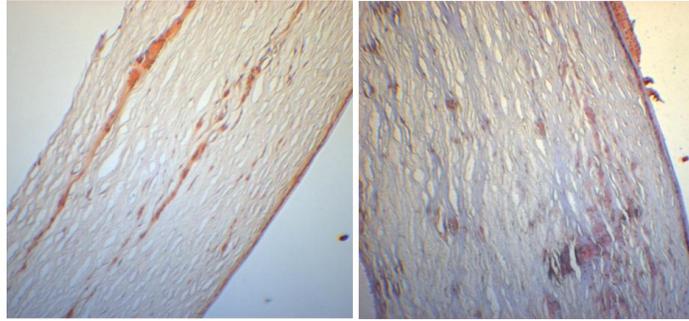


Figura 3.- Análisis histopatológico de la córnea del paciente #10 que manifiesta la mutación no descrita en p.L550P TGFBI asociada al tipo de GCD 2. Son evidentes los depósitos fusiformes amiloideos positivos a rojo Congo a la izquierda, así como los depósitos granulares con Tricomico de Masson a la derecha.

Dos pacientes (#12 y 13) presentaron la DC amiloide polimórfica, la cual fue descrita recientemente un fenotipo caracterizado por opacidades polimórficas, múltiples y poligonales, junto a líneas en empalizada (Figura 4) .

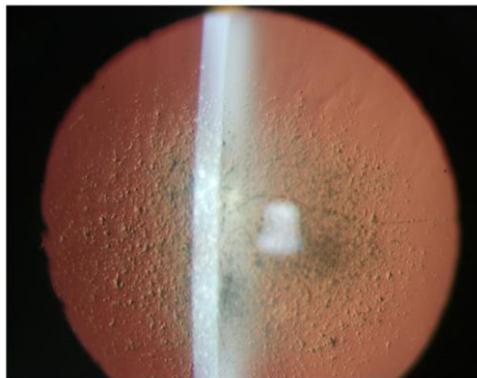


Figura 4. – Fotografía corneal bajo la técnica de retroiluminación el paciente #12 con mutación de A546D TGFBI. Las opacidades polimórficas situadas en córnea central son evidentes. También son evidentes los depósitos lineales cortos sin un patrón visible en lattice.

Dos de los pacientes (#8-9) presentaron características de DC de Reis-Buckers con opacidades bilaterales y simétricas en forma de panal de abejas en la membrana de Bowman.

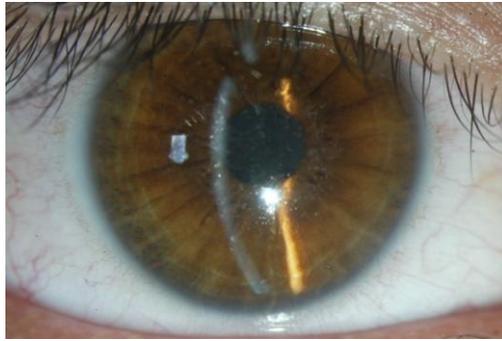


Figura 5.- Foto clínica de ojo derecho con opacidades subepiteliales microquísticas, dispersas localizadas en membrana basal epitelial y capa de Bowman

Tres pacientes (#1, #2 y #3) presentaron fenotipos atípicos e inclasificables. El paciente #1 presentaba opacidades bilaterales difusas localizadas en cornea central sin afectación periférica y sin erosiones epiteliales. Las opacidades eran de tamaño pequeño con poco espacio de cornea clara entre las lesiones. Este paciente fue clasificado como un tipo de distrofia granular atípica. El paciente 2 se caracterizaba por presentar múltiples lesiones blanco –grisáceas localizadas en el estroma anterior y numerosas lesiones pequeñas no coalescentes, se observaban en cornea periférica con lesiones de aspecto alargado en el centro de la córnea. El caso # 3 presento opacidades centrales simétricas y bilaterales pero no se reconocieron los depósitos de manera específica. El estudio histopatológico no fue posible de realizar y la DC permanece sin clasificar de manera histopatológica.

Solamente uno de los 19 pacientes no presentaba historia familiar de la enfermedad. Un total de 50 familiares de primero y segundo grado fueron analizados clínicamente y genéticamente. 24 de los 50 resultaron afectados (clínica y/o genéticamente) y 26 sanos.

Análisis Molecular: El análisis molecular de TGFBI reveló mutaciones los 19 casos índice, los cuales se desglosan en el siguiente cuadro:

Paciente #	Fenotipo Clínico	Mutación de TGFBI	Exon #	Nueva Mutación
1	Granular atípica	p.L550P/p.H626R	12/14	Si/No
2	Granular atípica	p.V113I	4	No
3	Sin Clasificar**	p.M502V	11	Si
4	Granular tipo I	p.R555W	12	No
5	Granular tipo I	p.R555W	12	No
6	Granular tipo I	p.R555W	12	No
7	Granular tipo I	p.R555W	12	No
8	Reis-Bucklers	p.R555W	12	No
9	Reis-Bucklers	p.R555W	12	No
10	GCD tipo 2	p.L550P	12	Si
11	GCD tipo 2	p.L550P	12	Si
12	Amiloide polimórfica	p.A546D	12	No
13	Amiloide polimórfica	p.A546D	12	No
14	Lattice	p.H626R	14	No

15	Lattice	p.H626R	14	No
16	Lattice	p.H626R	14	No
17	Lattice	p.H626R	14	No
18	Lattice (asimetrica)	p.H626R	14	No
19	Lattice (asimetrica)	p.H626R	14	No

Se observaron un total de 6 diferentes mutaciones: p.V113I, p.M502V, p.A546D, p.L550P, p.R555W, y p.H626R (Tabla1). De estas, la mutación p.L550P originada por el cambio de c.1649T>C en el exón 12, se detecto en 2 pacientes no relacionados y p.M502V (c1504A>G, exón 11) son nuevas mutaciones en el gen TGFBI.

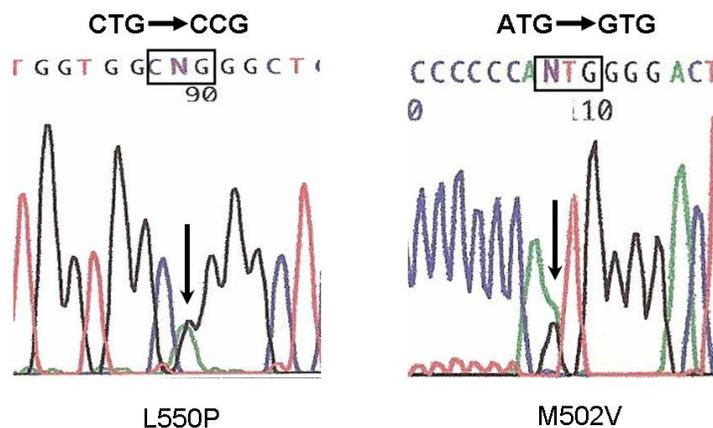


Figura 6. – Las nuevas mutaciones de gen TGFBI. Figura izquierda, secuencia parcial del exón 12 de TGFBI que demuestra una mutación de T a C en la posición 1649 del nucleótido la cual predice una mutación de p.L550P. La figura derecha, muestra la secuencia parcial del exón 11 del gen de TGFBI que demuestra un cambio de A por G en la posición 1504 del nucleótido, prediciendo una mutación de p.M502V. Los tripletes involucrados se muestran encerrados en un rectángulo y los cambios del aminoácido son mostrados debajo de las figuras.

Cien cromosomas controles fueron analizados para la mutación p.M502V y 114 para p.L550P y ningún alelo demostró estas mutaciones.

Dos cambios patogénicos simultáneos estuvieron presentes en el gen TGFBI en el paciente #1 el cual presentó un fenotipo atípico muy difícil de clasificar. Este paciente presentó un cambio c.1649T>C en el exón 12 y al mismo tiempo el cambio c.1877A>G en el exón 14, que originaban una mutación en TGFBI p.L550P y p.H626R respectivamente. Todos los pacientes que presentaron la distrofia corneal en Lattice (#14 al 19) presentaron la misma sustitución de nucleótido de manera heterocigota c.1877A>G en el exón 14 del gen TGFBI el cual representa un cambio de histidina a arginina en el codón 626 p.H626R. Cuatro de cinco paciente presentaron DCG tipo 1 (#4-7) y el quinto DC Reis-Bucklers (#8-9) presento el mismo cambio heterocigoto en el exón 12 c.1663C>T, que representa un cambio de arginina por triptófano en el codón 555, p.R555W. Dos paciente con DC amiloide polimórfica presentaron las sustitución del nucleótido c.1637C>A en el exón 12 del gen TGFBI, esto causa un cambio en el aminoácido alanina por acido aspártico en el codón 546, p.A546D. En el paciente #2 fue identificada una mutación heterocigota c.337G>A en el axón 4 del gen TGFBI el cual presenta un cambio de valina por isoleucina que remplaza el residuo 113 (p.V113I). Los pacientes #9 y #10 con el diagnóstico de DCG tipo 2 presentaron un cambio heterocigótico en c.1649T>C en el exón 12 del gen TGFBI en donde se encontró un cambio de leucina a prolina en el codón 550 (p.L550P) .

Finalmente el paciente #3 presentó un fenotipo atípico en c.1504A>G en el exón 11, que origina un cambio de metionina por valina en el codón 502 . Se estudio a la hija de este paciente y se encontró la misma mutación.

Discusión.

Es importante tener una caracterización de las DC de pacientes de diferentes grupos étnicos para establecer la contribución del gen TGFBI en poblaciones específicas y para detectar nuevas mutaciones permitiendo de esta manera tener una clasificación clínico-molecular más específica. En este estudio se correlacionó las características clínicas de 19 pacientes con DC estromales y/o de la capa de Bowman y la condición de TGFBI en estos pacientes.

Tres nuevas mutaciones del gen TGFBI: p.V113I, p.M502V, y p.L550P fueron identificadas. Valina p113 se encuentra estrictamente conservado en el gen TGFBI en muchas especies y existe la hipótesis que fenotipos atípicos de DC granular en estos pacientes está relacionado a una posición poco frecuente de la mutación de TGFBI.(12) La segunda mutación no descrita es p.M502V y es causa de un fenotipo no clasificable debido a que causa extensas opacidades corneales . El residuo metionina en la posición 502 está localizada en el dominio FAS3 del gen TGFBI y se encuentra estrictamente conservado en diferentes especies como el cerdo, macaco, ratón perro y chimpancé pero está ausente en ratones , ranas y el pez cebra. Mutaciones en prolina 501 han demostrado algunos casos de DC de lattice (14). No se cuenta con estudios histopatológicos que nos permitan una caracterización precisa de este paciente, sin embargo uno de sus parientes de

primer grado manifestó el cambio p.M502V en donde se encontraban depósitos en estroma anterior en ambas corneas. La tercera nueva mutación detectada fue p.L550P se encontró en 2 pacientes no relacionados que exhibieron un fenotipo clínicamente compatible con la DCG tipo 2 (Avellino). El residuo leucina en la posición 550 se encuentra localizado en el dominio Fas4 y se encuentra estrictamente conservado en la proteína TGFBI de diferentes especies como la rana, pez cebra, ratón, cerdo, macaco y conejo. El análisis del exón 4 del gen TGFBI de estos dos pacientes no fue positivo en la búsqueda de una mutación en p.R124H, la cual es característica de la DCG tipo 2 en las poblaciones ya estudiadas. (11, 15, 16). Nuestros datos revelan que la DC de Avellino o DCG tipo 2 es causada también por una mutación en p.L550P. Estudios histopatológicos realizados en uno de los pacientes mencionados confirmaron los depósitos hialinos y amiloide que son características de la DC de Avellino.

En uno de nuestros pacientes que presentó un fenotipo atípico, se identificaron dos diferentes mutaciones en el gen TGFBI, p.L550P y p.H626R. Se han reportado cuatro casos de asociaciones entre 2 diferentes mutaciones del gen TGFBI(17) , una de las cuales es un familia francesa con una distrofia corneal anterior atípica asociada a una mutación p.R124L y una delección del residuo treonina 125 y ácido glutámico 126 (17). Aldave et al (18) describió un sujeto con una variante fenotípica de lattice asociada con mutaciones en p.A546D y P551Q. Los mismos cambios fueron encontrados por Klintworth et all (19) en una familia proveniente de los Estados Unidos que ponen en manifiesto una DCL. No se encuentra evidencia de un efecto fundador entre estas 2 familias no relacionadas

(18 , 19). Finalmente 2 mutaciones en donde se encontró una inserción a 9pb en el exón 14 en la posición 1886_1886 y una mutación en la posición 1877, con un fenotipo atípico de lattice fue descrito por Schmitt-Bernard et al (20).

La mayoría de las mutaciones en el gen TGFBI que causan DC se encuentran en los residuos 124 y 555 (9). Sin embargo se han encontrado variaciones específicas en diferentes poblaciones, por ejemplo la DCG tipo 2 que causa un cambio de p.R124H es la mutación más común de DCG en Japón (21) y p.H626R es el defecto molecular más frecuente en la población Vietnamita y presenta una DC Lattice (15). En nuestro estudio, se identificaron mutaciones en el exón 12 (p.R555W en 5/17 pacientes) y en el exón 14 (p.H626R 6/18 pacientes) y sorprendentemente no se encontraron mutaciones en el residuo 124. Nuestro estudio indica la existencia de importantes diferencias en el espectro mutacional de TGFBI como se puede observar en la mutación p.H626R. De esta manera podríamos especular que un efecto fundador o cambios recurrentes en este sitio puede ser causante de la alta frecuencia de la mutación p.H626R en los casos de DC Lattice en población mexicana. Por otro lado, encontramos a 2 pacientes con la mutación p.H626R que exhibieron una notable asimetría en los depósitos característicos. Se han observado reportes de DC unilaterales o notoriamente asimétricas. (15, 22, 17).

Los pacientes con DCG tipo I, siguen la correlación genotipo-fenotipo característica p.R555W. Sin embargo, dos fenotipos de DC granulares anormales fueron asociados a mutaciones no clásicas, p.V113I y p.L550P/p.H626R, respectivamente.

La mutación p.A546D, asociada previamente a la DC amiloide polimórfica (23) fue demostrada en dos de nuestros probandos. El fenotipo observado en estos 2 pacientes es muy similar al descrito previamente por Eifrig et al (23). Hay hasta la fecha tres familias mexicanas independientes que llevan esta mutación particular. Uno de los dos pacientes con DCRB que cuenta con estudios histopatológicos y clínicos presenta la mutación p.R555W en lugar de la clásica p.R124L, que es la mutación característica de este tipo de DC (25). Este fue un resultado inesperado y de acuerdo con los resultados podemos especular que esta DC puede ser una variante atípica de DCG en vez de DCRB. La paciente con una edad de 26 años muy probablemente no ha desarrollado las características particulares de esta DC debida a su corta edad.

Una limitación que se manifiesta en nuestro estudio es la falta de estudios histopatológicos en un gran número de nuestros pacientes, esto es debió a que el tiempo de espera de la queratotomía penetrante es largo en nuestro país.

Conclusion

Este es el primer estudio sobre la caracterización genética de las DC ligadas al gen TGFBI en una muestra amplia de pacientes Mexicanos. Se demuestran nuevas mutaciones en población mexicana, se identificó un espectro mutacional distinto en nuestra población, se demostró que una misma mutación puede ocasionar diferentes fenotipos y que la asociación de dos mutaciones en un mismo paciente puede originar fenotipos corneales atípicos.

Bibliografía

1.- Chang, S.W., Tuli, S., Azar, D.T., 1998. Corneal Dystrophies. In: Traboulsi El. Genetic Diseases of the Eye. New York: Oxford University Press; 217-266.

2.- Rodrigues, M.M., Krachmer, J.H., 1988. Recent advances in corneal stromal dystrophies. *Cornea* 7,19-29.

3.-Klintworth, G.K., 1999. Advances in the molecular genetics of corneal dystrophies. *Am. J. Ophthalmol.* 128, 747-754.

4.- Pieramici, S.F., Afshari, N.A., 2006. Genetics of corneal dystrophies: the evolving landscape. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 17, 361-366.

5.- Munier, F.L., Korvatska, E., Djemai, A., Le Paslier, D., Zoógrafos, L., Pescia, G., Schorderet, D.F., 1997. Kerato-epithelin mutations in four 5q31-linked corneal dystrophies. *Nature Genet.* 15, 247-251.

6.- Skonier, J., Neubauer, M., Madisen, L., Bennett, K., Plowman, G.D., Purchio, A.F., 1992. cDNA cloning and sequence analysis of beta ig-h3, a novel gene induced in a human adenocarcinoma cell line after treatment with transforming

growth factor-beta. *DNA Cell. Biol.* 11, 511-522.

7.- Poulaki, V., Colby, K., 2008. Genetics of anterior and stromal corneal dystrophies. *Semin Ophthalmol.* 23:9-17.

8.- Aldave, A.J., Sonmez, B., 2007. Elucidating the molecular genetic basis of the corneal dystrophies. *Arch. Ophthalmol.* 125, 177-186.

9.- Kannabiran, C., Klintworth, G.K., 2006. TGFBI gene mutations in corneal dystrophies. *Hum. Mutat.* 27, 615-625.

10.- Klintworth, G.K., 2003. The molecular genetics of the corneal dystrophies current status. *Front. Biosci.* 8, d687-713.

11.- Munier, F.L., Frueh, B.E., Othenin-Girard, P., Uffer, S., Cousin, P., Wang, M.X., Heon, E., Black, G.C., Blasi, M.A., Balestrazzi, E., Lorenz, B., Escoto, R., Barraquer, R., Hoeltzenbein, M., Gloor, B., Fossarello, M., Singh, A.D., Arsenijevic, Y., Zografos, L., Schorderet, D.F., 2002. BIGH3 mutation spectrum in corneal dystrophies. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43, 949-954.

12.- Zenteno, J.C., Ramirez-Miranda, A., Santacruz-Valdes, C., Suarez-Sanchez, R., 2006. Expanding the mutational spectrum in TGFBI-linked corneal dystrophies: Identification of a novel and unusual mutation (Val113Ile) in a family with granular dystrophy. *Mol. Vis.* 12, 331-335.

13.- Aldave, A.J., Rayner, S.A., Kim, B.T., Prechanond, A., Yellore, V.S., 2006.

Unilateral lattice corneal dystrophy associated with the novel His572del mutation in the TGFBI gene. *Mol. Vis.* 12,142-146.

14.- Yamamoto, S., Okada, M., Tsujikawa, M., Shimomura, Y., Nishida, K., Inoue,

Y., Watanabe, H., Maeda, N., Kurahashi, H., Kinoshita, S., Nakamura, Y., Tano,

Y., 1998. A kerato-epithelin (betaig-h3) mutation in lattice corneal dystrophy. *Am J*

Hum. Genet. 62, 719-722.

15.- Chau, H.M., Ha, N.T., Cung, L.X., Thanh, T.K., Fujiki, K., Murakami, A.,

Kanai, A., 2003. H626R and R124C mutations of the TGFBI (BIGH3) gene caused

lattice corneal dystrophy in vietnamese people. *Br. J. Ophthalmol.* 87, 686-689.

16.- Chakravarthi, S.V., Kannabiran, C., Sridhar, M.S., Vemuganti, G.K., 2005.

TGFBI gene mutations causing lattice and granular corneal dystrophies in Indian

patients. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 46:121-125.

17.- Dighiero, P., Niel F, Ellies P., D'Hermies, F., Savoldelli, M., Renard, G., Delpech, M., Valleix, S., 2001. Histologic phenotype-genotype correlation of corneal dystrophies associated with eight distinct mutations in the TGFBI gene. Ophthalmology 108, 818-823.

18.- Aldave, A.J., Gutmark, J.G., Yellore, V.S., Affeldt, J.A., Meallet, M.A., Udar, N., Rao, N.A., Small, K.W., Klintworth, G.K., 2004. Lattice corneal dystrophy associated with the Ala546Asp and Pro551Gln missense changes in the TGFBI gene. Am. J. Ophthalmol. 138, 772-781.

19.- Klintworth, G.K., Bao, W., Afshari, N.A., 2004. Two mutations in TGFBI (BIGH3) gene associated with lattice corneal dystrophy in an extensively studied family. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 45, 1382-1388.

20.- Schmitt-Bernard, C.F., Guittard, C., Arnaud, B., Demaille, J., Argiles, A., Claustres, M., Tuffery-Giraud, S., 2000. BIGH3 exon 14 mutations lead to intermediate type I/IIIA of lattice corneal dystrophies. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 41, 1302-1308.

21.- Mashima, Y., Yamamoto, S., Inoue, Y., Yamada, M., Konishi, M., Watanabe, H., Maeda N., Shimomura, Y., Kinoshita, S., 2000. Association of autosomal

dominantly inherited corneal dystrophies with BIGH3 gene mutations in Japan. *Am. J. Ophthalmol.* 130, 516-517.

22.- Stewart H., Black G.C., Donnai, D., Bonshek, R.E., McCarthy, J., Morgan, S., Dixon, M.J., Ridgway, R.R., 1999. A mutation within exon 14 of the TGFBI (BIGH3) gene on chromosome 5q31 causes an asymmetric, late-onset form of lattice corneal dystrophy. *Ophthalmology* 106, 964-970.

23.- Eifrig, D.E., Jr, Afshari, N.A., Buchanan, HW., Bowling, B.L., Klintworth, G.K., 2004. Polymorphic corneal amyloidosis. A disorder due to a novel mutation in the transforming growth factor B-induced (BIGH3) gene. *Ophthalmology* 111, 1108-1114.

24.- Correa-Gomez, V., Villalvazo-Cordero, L., Zenteno J.C., 2007. The TGFBI A546D mutation causes an atypical type of lattice corneal dystrophy. *Mol. Vis.* 13,1695-700.

25.- Tanhehco, T.Y., Eifrig, D.E., Jr., Schwab, I,R., Rapuano, C.J., Klintworth, G.K., 2006. Two cases of Reis-Bucklers corneal dystrophy (granular corneal dystrophy type III) caused by spontaneous mutations in the TGFBI gene. *Arch. Ophthalmol.* 124, 589-593.

