



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

## “POLIMORFISMO rs11615 DEL GEN ERCC1 EN PACIENTES CON CATARATA SENIL”

### TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**CIRUJANO OFTALMÓLOGO**

### PRESENTA:

DR. KARLA ALEJANDRA TORRES NAVARRO

### ASESORES DE TESIS

DRA. CLAUDIA PALACIO PASTRANA

DR. HÉCTOR JAVIER PÉREZ CANO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019



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.

---

**DR. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA**  
PROFESOR TITULAR ANTE LA UNAM

---

**DR. OSCAR BACA LOZADA**  
PROFESOR ADJUNTO

---

**DRA. ADRIANA SAUCEDO CASTILLO**  
PROFESOR ADJUNTO / JEFE DE ENSEÑANZA  
E INVESTIGACIÓN

---

**DR. JAIME LOZANO ALCÁZAR**  
DIRECTOR MÉDICO

---

**DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS**  
SUBJEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

---

**DRA. CLAUDIA PALACIO PASTRANA**  
ASESOR DE TESIS

---

**DR. HÉCTOR JAVIER PÉREZ CANO**

ASESOR DE TESIS

## **Agradecimientos**

A Dios, por cada día en mi vida.

A mi familia que ha estado conmigo en todo el camino, por su apoyo incondicional, a mis padres por siempre creer en mis sueños, a mis hermanas y mis hermanos por inspirarme a cumplirlos.

Agradezco infinitamente a mis profesores por su enseñanza, dedicación, paciencia y apoyo, a nuestra formación como oftalmólogos, por hacernos mejores cada día.

A mis asesores por creer desde el principio en este proyecto.

A mis compañeros, que se convirtieron en grandes amigos e hicieron de estos años una experiencia increíble.

A la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, a todo el personal que me hizo sentir en familia todos los días.

## ÍNDICE

Resumen .....	5
Introducción .....	6
Planteamiento del problema .....	15
Justificación .....	15
Pregunta de investigación .....	15
Objetivo .....	16
Material y métodos .....	16
Resultados .....	21
Discusión .....	26
Conclusión .....	29
Anexos .....	30
Referencias .....	32

## Resumen

**Introducción.** La catarata senil es una de las causas más comunes de discapacidad visual en el mundo, el daño en los mecanismos de reparación de ADN contribuye a su patogénesis.

**Objetivo.** Comparar la frecuencia del polimorfismo en rs11615 en el gen ERCC1 en pacientes con y sin catarata senil.

**Material y métodos.** Se obtuvieron muestras de pacientes con catarata y sujetos control. Se realizó extracción de DNA y amplificación del gen ERCC1 por PCR. Se realizó secuenciación nucleotídica. Se aplicó prueba de chi – cuadrada, razón de momios e intervalos de confianza del 95% (GraphPad Prism V5).

**Resultados.** Se analizaron 52 pacientes con catarata y 31 sujetos control con promedio de edad de 73 y 68 años respectivamente. La frecuencia alélica para el grupo control fue 2%T y 98%C, para los pacientes 17%T y 83%C. La frecuencia genotípica para el grupo control fue 0%TT, 3%TC y 97%CC y para pacientes 2%TT, 31%TC y 67%CC. La comparación de la frecuencia alélica y genotípica presentaron diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) con RR de 1.21 y 1.41.

**Conclusiones.** El polimorfismo rs11615 en el gen ERCC1 (alelo T) es más frecuente en sujetos con catarata senil que en sujetos sin ella.

## Introducción

La catarata es la opacidad del cristalino la cual obstruye el paso de la luz hacia la retina ocasionando una pérdida lenta y progresiva de la visión, es la causa número uno de ceguera reversible en el mundo. Con el rápido crecimiento de la población y su envejecimiento la prevalencia y la incidencia de la catarata senil ha ido en aumento, convirtiendo a este padecimiento un problema mayor de salud pública.<sup>1,2,3</sup> La catarata puede aparecer en cualquier etapa de la vida, sin embargo, la edad es el mayor factor de riesgo para desarrollarla por lo que la comprensión de los cambios por envejecimiento dentro del cristalino puede proporcionar una mejor visión de los procesos que son responsables de su aparición.<sup>4,5</sup> La extracción quirúrgica de la catarata es un tratamiento muy efectivo y seguro, sin embargo esta opción terapéutica no es factible para toda la población, especialmente en poblaciones de ingresos bajos en países en vías de desarrollo por los servicios quirúrgicos inadecuados y los altos costos de cirugía, por lo cual toda vía que contribuya al entendimiento de la patología es una oportunidad para desarrollar estrategias de prevención y tratamientos dirigidos.<sup>6</sup>

La catarata senil es una patología común que se desarrolla de manera lenta a consecuencia del envejecimiento.<sup>7</sup> Aunque la fisiopatología de la catarata no está claramente entendida, existen factores ambientales y factores genéticos que contribuyen a su fisiopatología.<sup>8</sup> La catarata asociada a la edad tiene etiología

multifactorial, la edad, tabaquismo, índice de masa corporal, exposición a la luz, inflamación ocular crónica, deficiencia de estrógenos, factores cardiovasculares, vitaminas, apolipoproteínas, son factores que pueden predisponer al desarrollo de catarata senil <sup>7,9</sup> La evidencia más sólida de los factores de riesgo asociados a genética en catarata provino de estudios en gemelos que demostraron una heredabilidad del 48% para cataratas nucleares y 59% para cataratas corticales.

10,11

La teoría de los radicales libres en el envejecimiento postula que el incremento de daño en el ADN y la disminución de la capacidad de reparación de ADN llevan a la acumulación de daño en el mismo, resultando en senescencia o muerte celular, ocasionando opacidad del cristalino. <sup>12</sup> Las especies reactivas de oxígeno (ROS), se generan en las mitocondrias del epitelio y en las fibras superficiales del cristalino, cuando las especies reactivas de oxígeno exceden la capacidad de reparación, causan daño oxidativo en las macromoléculas en las células vivas como en proteínas, lípidos, ADN, causando mutagénesis y muerte celular. <sup>13</sup> Las células epiteliales con un DNA anormal continúan reproduciéndose en el cristalino hasta que un número crítico de células con daño oxidativo acumulado originan que las células epiteliales tengan un comportamiento anormal, incluyendo sitios aberrantes de migración fuera de la superficie del cristalino. <sup>14</sup> En una condición fisiológica normal, la mayoría de las lesiones oxidativas serían reparadas por escisión de bases, reparación por escisión de nucleótidos, y reparación por ruptura de doble cadena. <sup>9</sup>

Los polimorfismos genéticos son reconocidos como contribuyentes al riesgo genético de desarrollar catarata, y los esfuerzos que se realizan actualmente son en identificar las asociaciones entre polimorfismos genéticos y susceptibilidad a desarrollar catarata. <sup>15</sup>

La hipótesis de estudios en polimorfismos en genes reparadores de ADN indica que la reducción en su capacidad para la reparación del daño origina una mayor susceptibilidad a cáncer y otras enfermedades asociadas con el envejecimiento, en oftalmología se han estudiado estos mecanismos de reparación en pacientes con glaucoma, degeneración macular asociada a la edad y pterigión. <sup>16,17</sup>

La importancia de los factores de riesgo genéticos en catarata han sido destacados en estudios recientes en donde se reportan polimorfismos de genes asociados a los mecanismos de reparación del DNA, entre ellos los genes ERCC1, ERCC2, XRCC1, OGG1, EPHA2 y glutatión S- transferasa están asociados con el desarrollo de catarata senil en diferentes poblaciones. <sup>7,9,18</sup> La estabilidad del genoma esta sostenida por una intrincada máquina de reparación, tolerancia al daño y vías de control que contrarrestan el daño al DNA. <sup>19</sup> Una consecuencia potencial de los daños son alteraciones permanentes en la estructura de ADN que pueden generar mutaciones, transformación carcinogénica

y muerte celular. El DNA es la única molécula biológica que depende únicamente de la reparación de moléculas existentes, acumula daño durante toda la vida, y es representada por una única copia en la mayoría de las células. Se ha estimado que cada célula puede experimentar hasta 100,000 lesiones espontáneas en un día, lo cual indica que la molécula de ADN es constantemente agredida por distintos factores. <sup>19</sup>

Todas las moléculas biológicas son susceptibles a reacciones químicas espontáneas, la mayoría de estas son por hidrólisis, pero también existen las reacciones enzimáticas que tienen una tasa de error, y sus productos finales (incluyendo radicales libres, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno), pueden tener efectos dañinos en otras moléculas biológicas. Además, elementos del medio ambiente, rayos X, radiación ultravioleta, numerosos químicos, dañan continuamente las estructuras celulares, y el DNA es un blanco importante del deterioro tiempo- dependiente. <sup>19</sup>

La integridad del ADN es amenazada de tres formas: en primer lugar, las reacciones espontáneas (en su mayoría hidrólisis) intrínsecas a la naturaleza química del ADN que en una solución acuosa crean sitios abásicos y causan desaminación. El segundo, nuestro propio metabolismo genera especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, productos de la peroxidación lipídica, agentes alquilantes

endógenos, metabolitos de colesterol y estrógenos, y especies reactivas de carbonilo. Y en tercer lugar el daño por agentes exógenos físicos y químicos.<sup>19</sup>

Las células cuentan con mecanismos complejos que vigilan la integridad del ADN activando su reparación, mediada por vías de señalización, que requiere múltiples proteínas sensoras, transductoras y efectoras, en una red de interacción de diferentes vías de reparo. Existen mecanismos de reparación directa e indirecta de la lesión, los mecanismos de reparación directa son: fotorreactivación, alquiltransferencia y desmetilación oxidativa.<sup>20</sup> La fotorreactivación es un mecanismo de reparación que detecta alteraciones químicas en las bases de DNA por radiación UV, los efectos mutagénicos por la radiación UV son revertidos por la fotorreactivación, catalizados por una fotoliasa, posee dos cromóforos que captan un fotón, y su energía es utilizada para revertir el dímero, rompe el enlace covalente entre las pirimidinas reparando el daño en el ADN. En el genoma humano los dos genes CRY homólogos a las fotoliasas se encuentran codificados en la regulación del ciclo circadiano en los fotorreceptores.<sup>21</sup> El segundo mecanismo de reparación directa es la alquiltransferencia, en este proceso se realiza la remoción de aductos alquilo en las bases de ADN, estos grupos son incorporados al ADN como agentes químicos alquilantes, las alquitransferasas desplazan el grupo metilo desde la guanina al centro inactivo de la cisteína.<sup>22</sup> El tercer mecanismo de reparación directa es la desmetilación oxidativa, remueve daños por metilaciones en el ADN que pueden ser citotóxicas y con frecuencia presentan acción mutagénica, es ocasionada por compuestos nocivos que se producen de forma endógena como estrés oxidativo, inflamación, peroxidación de

lípidos, infecciones y otros procesos metabólicos, esta forma de reparación ha sido conservada desde bacterias hasta el ser humano.<sup>23</sup>

Existen otros mecanismos por sistemas de reparación indirecta que intervienen sobre el ADN durante la replicación, transcripción o sobre hebras de ADN fragmentadas, estos son: reparación por escisión de bases (BER), reparación por escisión de nucleótidos (NER), y reparación por apareamiento erróneo (Mismatch Repair).<sup>24</sup> El ADN se replica en una forma semi – conservativa, cada hebra de esta molécula genera una nueva, lo cual permite que los errores introducidos durante la replicación puedan ser corregidos por los mecanismos de reparación por escisión de la lesión, por lo tanto, si los nucleótidos presentan un daño, pueden ser eliminados utilizando como molde la cadena complementaria para la síntesis de la reparación.<sup>25</sup> El principio de los tres mecanismos de reparación es el mismo: reconocen, remueven y reparan los errores en la molécula, constituyendo los principales mecanismos celulares que garantizan la estabilidad genética, y consecuentemente la propia supervivencia de la célula.<sup>20,24</sup> La reparación por escisión de bases corrige daños oxidativos derivados de la alquilación celular y despurinizaciones espontáneas, es utilizada por la célula para la protección contra daños y pérdidas de bases generando sitiosapurínicos o apirimidinicos, sitios AP, los cuales pueden ser mutagénicos y citotóxicos si no son reparados correctamente, tornándose una amenaza para la viabilidad celular e

integridad genómica por tener el poder de bloquear la replicación o la transcripción. El mecanismo de funcionamiento es retirar la base alterada por enzimas llamadas glicosilasas, las glicosilasas reconocen y remueven las bases con daños específicos, rompen el enlace glicosídico, originando un sitio AP, posterior a ser retirada el sitio AP es reconocido por una AP- endonucleasa, se elimina el resto del nucleótido por medio de un corte, posteriormente una exonucleasa degrada el corte y deja un espacio en la cadena que es reparado por la ADN polimerasa y finalmente sellado por una ligasa, que restaura la integridad de la molécula.<sup>20</sup>

El segundo mecanismo de reparación indirecta es uno muy versátil, la reparación por escisión de nucleótidos, repara daños en el ADN causados por la radiación UV, agentes mutagénicos, quimioterapia. Un complejo de polipéptidos actúan como endonucleasas, localizando la lesión y removimiento los nucleótidos con daño, la proteína UvrA es la primera en unirse y reconocer el daño en el ADN, identifica una distorsión en la molécula de ADN y no la secuencia errónea de nucleótidos, lo que permite corregir una amplia variedad de daños. La lesión es reconocida por un complejo de heterodímeros compuesto por dos moléculas UvrB con un dímero de UvrA2 que causa desnaturalización local de la lesión, posteriormente UvrB se adhiere al sitio de la lesión y se disocia de UvrA2. UvrC se une a la cadena de daño promoviendo dos escisiones en la misma, finalmente UvrD remueve el segmento de oligonucleótidos lesionados y la ADN polimerasa I, y sintetiza los correctos que son unidos por una ligasa. Este mecanismo de reparación es muy importante en el estudio de polimorfismos genéticos, inicia con

el reconocimiento de daño en el ADN, aquí actúan XPC, DDB, XPA y RPA. Posteriormente reclutan complejos de reparación a través de la acción de helicasas (XPB y XPD), induciendo una incisión en la hebra con daño por acción de las nucleasas (XPG y ERCC1 – XPF). Finalmente, la síntesis es realizada por una polimerasa I y una ligasa. Dentro de la reparación por escisión de nucleótidos existen dos alternativas de reparación, reparación global del genoma (GGR) y transcripción de reparación acoplada. La deficiencia de estas vías de reparación, están alteradas en el síndrome de Cockayne, xeroderma pigmentoso, cáncer e inestabilidad genómica.<sup>26</sup>

El tercer mecanismo de reparación indirecta es reparación por apareamiento erróneo, es el responsable de remover las bases despareadas, causadas por daños espontáneos, desaminación de bases, oxidación, metilación y daños en los procesos de replicación o recombinación, mantiene la estabilidad genómica y reduce las mutaciones durante la replicación.<sup>20</sup>

Algunos de los polimorfismos de un solo nucleótido relacionados con el desarrollo de catarata senil han sido en los genes ERCC1, ERCC2 y XRCC1 y las frecuencias han sido comparadas entre grupos de pacientes con catarata de diferentes edades, sin embargo, la frecuencia de estos genes no ha sido estudiada en población abierta. El ERCC1 es un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.32) que codifica para la proteína de reparación de DNA

*ERCC1*, vital para la reparación de lesiones de ADN, tanto las producidas por rayos UV o compuestos electrofílicos como el cisplatino. *ERCC1* se enlaza a un heterodímero formado por la endonucleasa XPF que cataliza la incisión de 5' en el daño del DNA.<sup>18</sup> El gen *ERCC2* se localiza en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.2-q13.3), codifica para una helicasa, la cual es un componente en el factor de transcripción humano II(TFIIH). EL TFIIH es esencial para iniciar la transcripción mediada por la RNA polimerasa II, y para la escisión de nucleótidos.<sup>7</sup> El gen *XRCC1* está localizado en el cromosoma 19 (19q13.2-13.3), codifica una proteína con una actividad enzimática desconocida, pero esta tiene múltiples dominios de interacción con proteínas relacionadas con la reparación de daño vía escisión de bases en el DNA, como: APE1, POL beta, polimerasa poly- DP- ribosa (PARP 1) y DNA ligasa tipo III (LIG3). Esto sugiere que el *XRCC1* es reclutado por glicosilasas para llegar al sitio de daño del DNA y posteriormente coordina los siguientes pasos para la reparación por escisión de bases modulando la actividad de otros factores.<sup>18</sup>

Los mecanismos de reparación de DNA existen para protección del cristalino en respuesta al estrés oxidativo.<sup>5</sup> Por todo lo anterior es que se decidió realizar un protocolo de investigación en el cuál se analizó el polimorfismo rs11615 354 C>T del gen *ERCC1* involucrado en la reparación del ADN en pacientes con catarata relacionada con la edad.

## **Planteamiento del problema**

Los polimorfismos en los genes reparadores del ADN se asocian con una menor capacidad de reparación del daño oxidativo, el estrés oxidativo al que es sometido el cristalino es conocido como una de las vías fisiopatológicas asociadas a la catarata senil, por lo cual la presencia de catarata senil podría estar asociada a una mayor frecuencia de polimorfismos en genes reparadores de ADN.

## **Justificación**

La catarata es la principal causa de ceguera en el mundo, identificar una asociación entre los polimorfismos en los genes de reparación de daño en el ADN y la presencia de catarata senil podría contribuir a detectar sujetos con mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad.

## **Pregunta de investigación**

¿La presencia de catarata senil se asocia a la presencia del polimorfismo rs 11615 en el gen ERCC1 (alelo T)?

### **Objetivo principal**

Determinar la relación del polimorfismo C <T en rs11615 en el gen ERCC1 en pacientes con catarata senil.

### **Objetivos secundarios**

Comparar la frecuencia del polimorfismo en rs11615 en el gen ERCC1 en pacientes con y sin catarata senil.

### **Metodología**

Se realizó un estudio observacional, comparativo, transversal y prospectivo. Se reclutó un grupo de pacientes con catarata senil y un grupo de sujetos sin presencia de catarata como control.

## **Grupo estudio**

### **Criterios de inclusión:**

- Pacientes con catarata senil. Clasificadas con el Sistema de Clasificación de Opacidades de Cristalino (Lens Opacities Classification System III, LOCS III).
- Edad mayor a 55 años
- Capacidad visual <20/40
- Sin otra patología causante de baja visual

### **Criterios de exclusión:**

- Catarata asociada a enfermedad sistémica
- Pacientes con diagnóstico de uveítis, glaucoma, degeneración macular relacionada a la edad
- Cirugía ocular previa
- Catarata traumática

## **Grupo control:**

### **Criterios de inclusión**

- Edad mayor a 55 años
- Cristalino transparente
- Capacidad visual >20/25 ambos ojos

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes con diagnóstico de uveítis, glaucoma, degeneración macular relacionada a la edad
- Cirugía ocular previa

### **Criterios de eliminación**

- Expediente clínico incompleto
- Decisión del sujeto de retirarse del estudio

El protocolo fue aprobado por el comité de Ética e Investigación y se siguieron los lineamientos de la Declaración de Helsinki.

Previo consentimiento informado se obtuvo una muestra de sangre completa utilizando EDTA como anticoagulante.

Se realizó extracción de DNA utilizando el kit QIAamp mini kit® (Qiagen) siguiendo las indicaciones del proveedor. A 200 µL de la muestra se le adicionó 250µL de la solución de lisis CLS, las muestras fueron incubadas a 56°C/60min, en presencia de 30 µL proteinasa K (1mg/mL) y se agitó en vórtex cada 10min. Posteriormente se adicionó 100 µL de la solución de precipitación para incubar en refrigeración/5 min, las muestras fueron centrifugadas nuevamente y se decantaron en un nuevo tubo Eppendorf para hacer los lavados con 300 µL de isopropanol, se homogenizó invirtiéndolos 50 veces de manera suave, con una tercera centrifugación por 5 minutos se decantó el sobrenadante y se precipitó con 300 µL etanol al 70% Las muestras se dejaron concentrar a 35°C/12hrs donde finalmente se agregó 100 µL de solución de hidratación; el material genético fue almacenado a -20°C hasta su estudio.

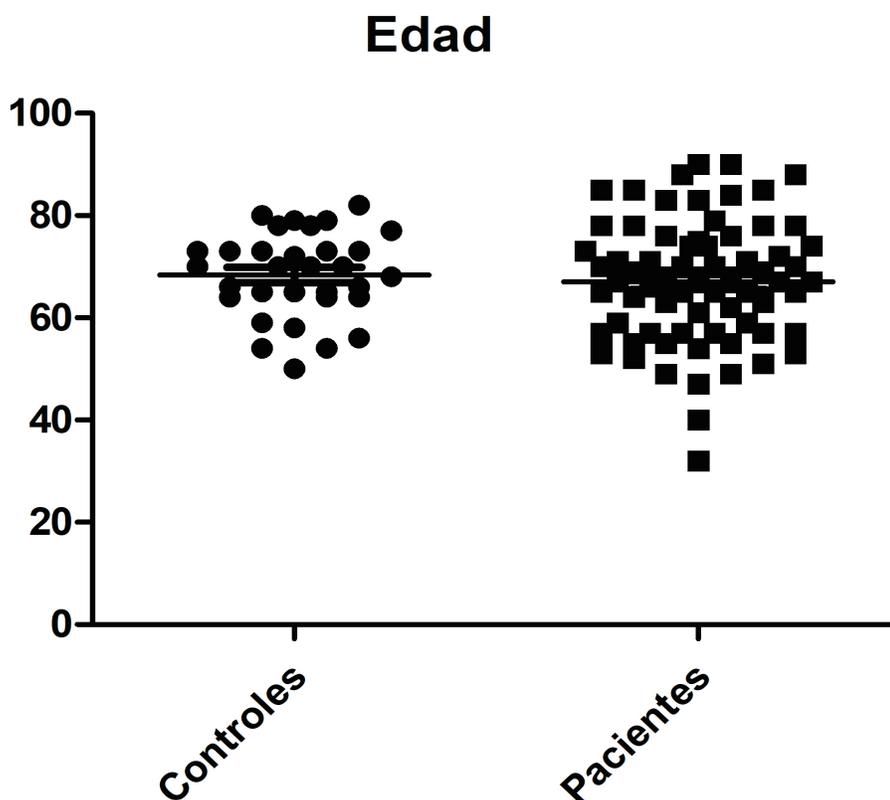
\*Cabe destacar que todo el material que se empleó para esta técnica era material nuevo, estéril y libre de DNasas – RNasas.

Se realizó la amplificación del gen ERCC1 por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) utilizando oligonucleótidos diseñados para la región del SNP rs11615 354C>T. Posteriormente se realizó secuenciación directa con la técnica de secuenciación por terminadores fluorescentes (BigDye).

**Análisis estadístico:** Se realizó una prueba de t de Student para valorar la comparación de los grupos por edad. Los datos de frecuencia alélica y genotípica fueron analizados con prueba de  $\chi^2$ , razón de momios (OR) e intervalos de confianza del 95% usando el software GraphPad Prism V.5. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0.05$  y  $OR > 3$ .

## Resultados.

En el estudio se analizaron 52 muestras de pacientes con catarata senil y 31 sujetos control con cristalino transparente. El promedio de edad fue de  $73 \pm 13$  años y  $68 \pm 16$  años respectivamente. En el grupo de estudio, el porcentaje del género femenino fue de 45%, y en el grupo control fue de 57%. No se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar por edad. **Figura 1.**

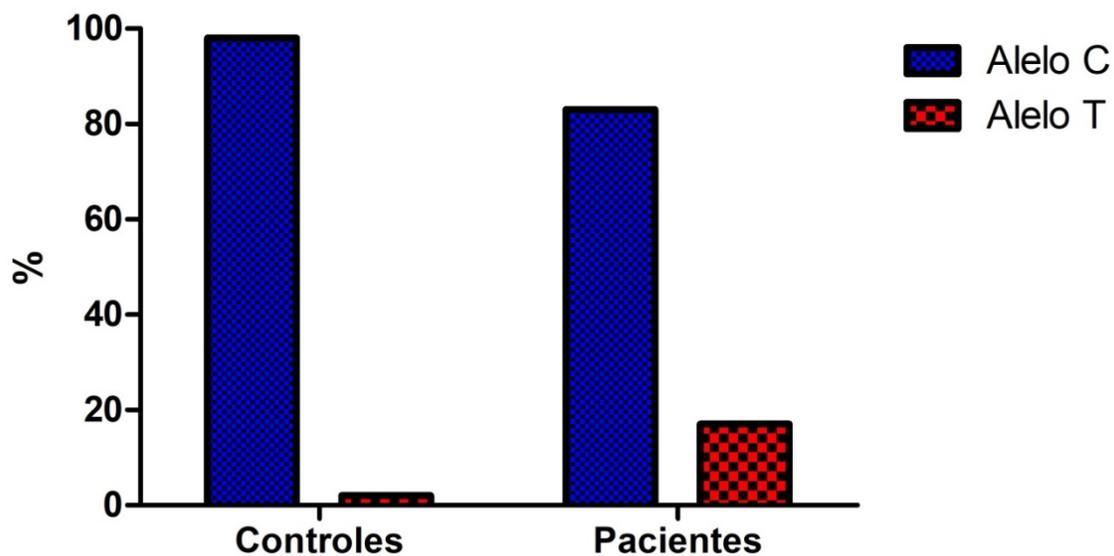


**Figura 1.** Se realizó una prueba de T no pareada para la comparación entre grupos de edad. Se obtuvo una  $p= 0.5672$ , siendo no estadísticamente significativo, por lo cual los grupos son comparables.

El SNP rs11615 354 C>T del gen ERCC1 produce un cambio de Citosina (C) por Timina (T). La frecuencia alélica para el grupo control fue de 2% para el alelo T y 98% para el alelo C, para los pacientes se presentó el 17% el alelo T y 83% el alelo C mostrando una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) con una razón de momios de 13.2, con intervalo de confianza del 95% (1.71- 101.38).

## **Figura 2**

## Frecuencia alélica



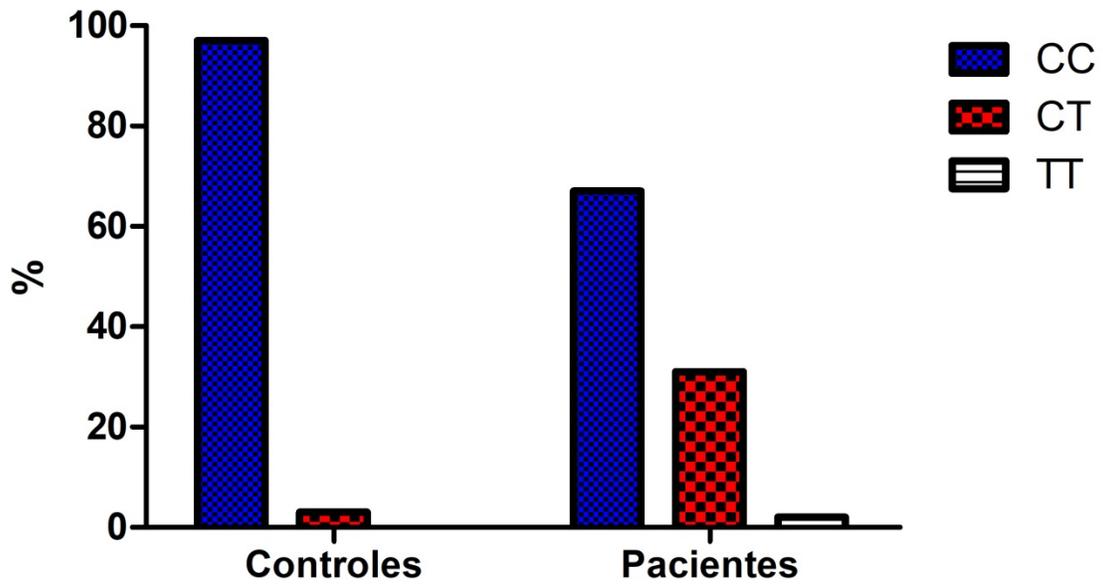
	Alelo C	Alelo T	
<b>Controles</b>	63 (98%)	1 (2%)	p = 0.0018*
<b>Pacientes</b>	86 (83%)	18 (17%)	OR = 13.2 IC: 95% (1.71 – 101.38)

\*Análisis utilizando la prueba  $\chi^2$

**Figura 2.** Frecuencia alélica del SNP rs11615 354 C>T del gen ERCC1

En la comparación de la frecuencia genotípica, el genotipo homocigoto TT estuvo ausente en el grupo control por lo que no fue posible realizar el análisis estadístico entre este genotipo. La frecuencia genotípica para el grupo control fue de 0% TT, 3% TC y 97% CC y para pacientes fue 2% TT, 31% TC y 67% CC. Al hacer la comparación entre los genotipos CC vs CT se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.0012$ ) estando presente en mayor porcentaje el genotipo CT en pacientes, la razón de momios fue de 15.05, el intervalo de confianza del 95% (1.89 – 119.79). **Figura 3.**

### Frecuencia genotípica



	CC	CT	TT	
<b>Controles</b>	31 (97%)	1 (3%)	0 (0%)	CC vs CT p= 0.0012*  OR = 15.05  IC: 95% (1.89 – 119.79)
<b>Pacientes</b>	35 (67%)	16 (31%)	1 (2%)	

\*Análisis utilizando la prueba X<sup>2</sup>

**Figura 3.** Frecuencia genotípica del SNP rs11615 354 C>T del gen ERCC1

## Discusión

El análisis de los polimorfismos genéticos permite identificar genes que confieren susceptibilidad a presentar enfermedades <sup>8</sup>. Numerosos estudios han revelado asociaciones de polimorfismos en genes de reparación del DNA en el riesgo de cáncer, sin embargo, son muy pocos los estudios realizados en enfermedades oculares. <sup>5,7,9,18</sup> La catarata senil está asociada a factores como exposición de rayos ultravioleta, radiación ionizante, tabaquismo y estrés oxidativo, los cuales favorecen el daño al material genético. <sup>7</sup> Los sistemas de reparación del DNA juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad del DNA. <sup>9, 24</sup> Los polimorfismos en los genes de reparación del DNA pueden afectar la capacidad de reparación.

El daño oxidativo al ADN es una consecuencia inevitable del metabolismo celular en diferentes órganos. El daño oxidativo mediado por especies reactivas de oxígeno es una vía de patogénesis de la catarata. Las especies reactivas de oxígeno generan peroxidación de lípidos, aumentando la producción de peróxidos lipídicos en diversas formas de catarata. También pueden inducir daño en las bases, sitios abásicos, rupturas de una sola hebra o dos en el DNA, se puede establecer un ciclo vicioso de daño en el DNA y producción de especies reactivas de oxígeno dentro de las células, lo que conduce a la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la liberación de citocromo C, lo que resulta en apoptosis. Estudios previos han reportado que en pacientes jóvenes el epitelio anterior del cristalino tiene una distribución uniforme comparado con la superficie irregular y de baja densidad en pacientes de mayor edad. La apoptosis del epitelio anterior del

cristalino desempeña un papel importante en la patogenia de la catarata, las estrategias para mantener el estrés oxidativo en niveles bajos, también está relacionado con las vías de reparación de ADN, la disminución de estas enzimas y la menor capacidad de reparación con el envejecimiento pone en riesgo el cristalino al daño oxidativo y catarata.<sup>27</sup>

Las vías de reparación de DNA juegan un papel importante en la integridad genética, es claro que defectos en las vías de reparación estén asociados con el desarrollo de catarata, sin embargo al realizar el análisis de polimorfismos en diferentes poblaciones como en el caso del gen *XPD-Lys751Gln* tiene un incremento en el riesgo de desarrollar catarata en población Turca, y no se encontró asociación en población China.<sup>5, 28, 29</sup>

Las variaciones genéticas de ERCC1, como un gen clave de la reparación del DNA, podrían estar relacionadas en el desarrollo de catarata senil. En un estudio realizado por Valverde y colaboradores, no encontraron una asociación del polimorfismo rs11615 con presencia de catarata en pacientes jóvenes y catarata senil, a diferencia de este estudio que se realizó en pacientes con presencia de catarata senil y controles de la misma edad con cristalino transparente, el análisis de las frecuencias alélica y genotípica del polimorfismo rs11615 354 C>T del gen ERCC1 mostró una diferencia estadísticamente significativa, estando presente con mayor frecuencia el alelo T en el grupo de pacientes, lo que nos hace pensar que el tiempo de exposición prolongado a la radiación UV en sujetos con el

polimorfismo contribuye significativamente al desarrollo de catarata con la presencia de estrés oxidativo. Nuestros datos apoyan la hipótesis de que el alelo T presenta un factor de riesgo para el desarrollo de catarata senil, mientras que el alelo C confiere un factor protector.

El análisis de la razón de momios indica que los pacientes portadores del alelo T o heterocigotos para el genotipo CT, tienen mayor probabilidad de presentar catarata senil. Una de las debilidades del estudio fue la ausencia del genotipo homocigoto TT que no permitió realizar el análisis con el genotipo CC, sin embargo, el análisis de la variación alélica nos permite sugerir que existe una asociación entre el polimorfismo rs11615 354T y el riesgo de desarrollar catarata senil. Un aumento en el tamaño de la muestra permitiría encontrar la presencia del genotipo TT y poder realizar la comparación genotípica. El presente estudio permite sugerir que el alelo T es un factor de riesgo para el desarrollo de catarata senil, hasta el momento en la bibliografía consultada no se ha encontrado un trabajo con la comparación del polimorfismo entre grupos de pacientes con catarata senil y un grupo control de la misma edad, sin embargo, existen estudios de este polimorfismo en enfermedades no oculares que señalan al alelo T como un factor de riesgo, lo que correlaciona con los resultados obtenidos.

## **Conclusiones**

El polimorfismo rs11615 en el gen ERCC1 (alelo T) es más frecuente en sujetos con catarata senil que en sujetos sin ella. Las pruebas comparativas sugieren una relación entre catarata senil y el polimorfismo rs11615 354C>T del gen ERCC1. El alelo T está asociado con un mayor riesgo de desarrollar catarata senil. Los datos actuales apoyan la importancia de los polimorfismos en los genes de reparación de DNA como potenciales blancos farmacológicos para promover la reparación de ADN y mantener la estabilidad del genoma. Se necesitan más estudios para precisar los mecanismos de reparación de DNA en los polimorfismos que afectan a la catarata senil. La manipulación de estos blancos terapéuticos puede proporcionar una estrategia para prevenir o retardar la progresión de la catarata relacionada con la edad.

## Anexos.

### CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

En esta institución se desarrollan investigaciones que forman parte de nuestro quehacer científico. Las características de su padecimiento son consideradas de interés para participar en este estudio de acuerdo a las especificaciones siguientes:

#### Datos generales

<i>Datos del paciente</i>	Nombre: Fecha de nacimiento:	
<i>Expediente clínico No.</i>		
<i>Médico informante (investigador principal):</i>	Dra. Karla Alejandra Torres Navarro	Firma:
<i>Diagnóstico</i>	Catarata senil	

#### Datos de la investigación

<i>Nombre del protocolo</i>	Polimorfismos en genes de reparación de DNA en la catarata relacionada a la edad
<i>Investigadores</i>	Dra. Karla Alejandra Torres Navarro; Dr. Héctor Javier Pérez Cano; Dra. Claudia Palacio Pastrana
<i>Justificación y objetivos</i>	La catarata es la principal causa de ceguera en el mundo. El objetivo es determinar la presencia de polimorfismos en genes de reparación de daño del ADN, y su asociación con el desarrollo de catarata.
<i>Periodo de estudio o duración</i>	Dos años
<i>Cantidad de sujetos que participarán</i>	Ochenta
<i>Descripción de los métodos a emplear y su propósito</i>	Se obtendrá muestra de sangre venosa. Extracción de DNA utilizando el kit QIAamp mini kit siguiendo las indicaciones del proveedor. Amplificación de los genes ERCC1 utilizando la técnica de reacción en cadena de polimerasa. Secuenciación directa. Análisis de datos.
<i>Beneficios esperados:</i>	
<i>Alternativas:</i>	
<i>Riesgos o molestias:</i>	Hematoma, dolor, infección en el sitio de punción

<i>Grupo de control</i>	En caso de que la presente investigación incluya un grupo de control, la selección de los participantes se sujetará a un proceso estrictamente aleatorio e imparcial, privilegiando la prevención de cualquier riesgo o daño para sus integrantes.
<i>Gastos</i>	Los gastos de la investigación serán cubiertos por la institución.

<i>Confidencialidad</i>	Su identidad y la información que proporcione como parte de esta investigación serán tratadas bajo criterios de confidencialidad. En caso de que los resultados exijan su identificación, previamente se le solicitará la autorización correspondiente.
<i>Dudas, aclaraciones y actualización</i>	<p>El participante tendrá derecho a recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y su tratamiento.</p> <p>Asimismo, durante el presente estudio le proporcionaremos información actualizada sobre su estado de salud para que esté en posibilidad de decidir si continua participando.</p> <p>Es importante que sepa que retirar su participación no afectará su atención en el hospital.</p>

### **Consentimiento**

Por este medio manifiesto mi satisfacción con la información recibida y, consciente de las especificaciones y en qué consiste la investigación descrita en este documento, sus beneficios, riesgos y consecuencias, **otorgo mi consentimiento para incorporarme a ella, asumiendo el compromiso de (1) asistir puntualmente a las citas que se me indiquen y (2) proporcionar verazmente la información de mi evolución en la forma y periodicidad que se requiera.**

Asimismo, entiendo que puedo retirarme de esta investigación voluntariamente en cualquier momento sin mayor requisito que la manifestación al investigador principal o a la Dirección Médica de este hospital.

México D.F. a \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Firma del paciente

### **Testigos**

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

## **Bibliografía.**

1. Javitt JC, Wang F, West SK. Blindness due to cataract: epidemiology and prevention. *Annu Rev Public Health* 1996;17: 159 –77.
2. Foster A, Resnikoff S. The impact of Vision 2020 on global blindness. *Eye*. 2005;19:1133–1135.
3. Rao GN, Khanna R, Payal A. The global burden of cataract. *Curr Opin Ophthalmol* 2011; 22:4-9.
4. Barroso Peña Y, Avila Balmaseda Y, Rodríguez Bencomo, Rodríguez Romero A. Características clínico epidemiológicas de la catarata. *Archivo Médico de Camagüey*. 2010, Vol. 14 (2)
5. Yi Zhang, Lan Zhang, Zhen Song, Dong Lin Sun, Han Ruo Liu, Song Bin Fu, Dong Rui Liu, Ping Liu. Genetic Polymorphisms in DNA Repair Genes OGG1, APE1, XRCC1, and XPD and the Risk of Age-Related Cataract *Ophthalmology* 2012; 119:900–906
6. Rosen ES. Age-related macular degeneration and cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2014; 40: 173-174.
7. Ruo Qi, Zhimin Gu, Lixiao Zhou. The effect of GSTT1, GSTM1 and GSTP1 gene polymorphisms on the susceptibility of age-related cataract in Chinese Han population; *Int J Clin Exp Med* 2015;8(10): 19448-19453
8. Robman L, Taylor H. External factors in the development of cataract. *Eye*. 2005; 19(10): 1074–82
9. Shu Su, Yong Yao, Rongrong Zhu, Congkai Liang, Shengqun Jiang, Nan Hu, Jing Zhou, Mei Yang, Qian Xing, and Huaijin Guan The Associations between Single Nucleotide Polymorphisms of DNA Repair Genes, DNA Damage, and Age-Related Cataract: Jiangsu Eye Study IOVS, February 2013, Vol. 54, (2)
10. Hammond CJ, Snieder H, Spector TD, Gilbert CE. Genetic and environmental factors in age-related nuclear cataracts in monozygotic and dizygotic twins. *N Engl J Med*. 2000;342: 1786–1790.

11. Hammond CJ, Duncan DD, Snieder H, et al. The heritability of age-related cortical cataract: the twin eye study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:601–605
12. Stuart JA, Karahalil B, Hogue BA, et al. Mitochondrial and nuclear DNA base excision repair are affected differently by caloric restriction. *FASEB J* 2004;18:595–7.
13. Olinski R, Siomek A, Rozalski R, et al. Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases. *Acta Biochim Pol* 2007;54:11–26.
14. Wolf N, Pendergrass W, Singh N, et al. Radiation cataracts: mechanisms involved in their long delayed occurrence but then rapid progression. *Mol Vis [serial online]* 2008;14:274–85.
15. Wu X, Lai W, Lin H, Liu Y (2017) Association of OGG1 and MTHFR polymorphisms with age-related cataract: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 12(3)
16. Ladiges W, Wiley J, MacAuley A. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and age-related disease. *Mech Ageing Dev* 2003;124:27–32.
17. Görgün E, Güven M, Unal M, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes *XPD* and *XRCC1* and the risk of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51: 4732–7.
18. Gloria López-Valverde, Elena Garcia-Martin, Javier Fernández-Mateos, Fernando Cruz-González, José M. Larrosa-Povés, Vicente Polo-Llorens & Luis E. Pablo-Júlvez (2016): Study of association between pre-senile cataracts and rs11615 of ERCC1, rs13181 of ERCC2, and rs25487 of XRCC1 polymorphisms in a Spanish population, *Ophthalmic Genetics*
19. Jan H.J. Hoeijmakers. *Molecular Origins of Cancer, DNA Damage, Aging, and Cancer*; The New England Journal of Medicine; 2009; 361; 15
20. Tafurt Y, Marin MA. Principales mecanismos de reparación de daños en la molécula de ADN. *Revista Biosalud* 2014; 13(2): 95-110.

21. Thompson CL, Sancar A. Photolyase/cryptochrome blue-light photoreceptors use photon energy to repair DNA and reset the circadian clock. *Oncogen* 2002; 21(58):9043-56.
22. Pegg AE, Dolan ME, Moschel RC. Structure, Function, and Inhibition of O6 Alkylguanine DNA Alkyltransferase. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. Academic Press; 1995. p. 167-223.
23. Yang C-G, Garcia K, He C. Damage Detection and Base Flipping in Direct DNA Alkylation Repair. *Chembiochem* 2009; 10(3):417-23.
24. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003; 421(6921):436-40.
25. Subba Rao K, Loeb LA. DNA damage and repair in brain: relationship to aging. *Mutation Research/ DNAging* 1992; 275(3-6):317-29.
26. Leibel D, Laspe P, Emmert S. Nucleotide excision repair and cancer. *J Mol Histol* 2006; 37(5-7):225-38.
27. Carper DA, Sun JK, Iwata TJ, et al. Oxidative stress induces differential gene expression in a human lens epithelial cell line. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:400-6.
28. Unal M, Güven M, Batar B, et al. Polymorphisms of DNA repair genes XPD and XRCC1 and risk of cataract development. *Exp Eye Res* 2007;85:328 – 34.
29. Kad NM, Wang H, Kennedy GG, Warshaw DM, Van Houten B. Collaborative Dynamic DNA Scanning by Nucleotide Excision Repair Proteins Investigated by Single-Molecule Imaging of Quantum-Dot- Labeled Proteins. *Mol Cell* 2010; 37(5):702-13.