



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA  
"FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA"

"DESCRIPCIÓN CLÍNICA Y GENÉTICA DE UN GRUPO DE  
PACIENTES EN POBLACIÓN MEXICANA CON ENFERMEDAD DE  
STARGARDT"

**TESIS DE POSGRADO**  
**PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD EN**  
**OFTALMOLOGÍA**  
**PRESENTA**

**Dr. Roger Agustín Fest Parra**

**DIRECTOR DE TESIS**  
**Dr. Gerardo Ledesma Gil**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Gerardo Ledesma Gil', written over a set of diagonal lines.



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**Descripción clínica y genética de un grupo de pacientes en población mexicana con enfermedad de Stargardt**

---

Dr. Enrique Graue Wiechers.

**Profesor Titular del Curso**



---

Dr. Gerardo Ledesma Gil

**Director de Tesis.**



---

Dr. Alejandro Navas Pérez.

**Jefe de Enseñanza**



**Instituto de Oftalmología**  
Fundación de Atención Privada Conde de Valenciana S.A.S.  
**Jefatura de Enseñanza**  
Chimalpopoca 14, Colonia Obrera  
Ciudad de México

## **Título**

“Descripción clínica y genética de un grupo de pacientes en población mexicana con enfermedad de Stargardt”

## **Investigadores**

Investigador principal

Dr. Roger Agustín Fest Parra

Investigadores adjuntos

Dr. Rodrigo Matsui Serrano

Dr. Gerardo Ledesma Gil

Dr. Óscar Francisco Chacón Camacho

Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz

## **Fecha de inicio y de finalización de la investigación**

Inicio: 1 de marzo de 2021

Finalización: 30 de septiembre de 2021

## Índice

|   |    |
|---|----|
| <a href="#">1. Resumen estructurado</a>   | 4  |
| <a href="#">2. Abstract</a>   | 5  |
| <a href="#">3. Marco teórico</a>  | 6  |
| <a href="#">3.1. Introducción</a>   | 6  |
| <a href="#">3.2. Antecedentes</a>   | 6  |
| <a href="#">4. Pregunta de investigación</a>                                      | 13 |
| <a href="#">5. Planteamiento del problema</a>                                     | 14 |
| <a href="#">6. Justificación</a>  | 15 |
| <a href="#">7. Hipótesis</a>  | 16 |
| <a href="#">8. Objetivos</a>  | 17 |
| <a href="#">9. Materiales y métodos</a>   | 18 |
| <a href="#">9.1. Diseño del estudio</a>   | 18 |
| <a href="#">9.2. Criterios de selección</a>                                       | 18 |
| <a href="#">9.3. Procedimiento</a>  | 18 |
| <a href="#">9.4. Tamaño de muestra</a>  | 24 |
| <a href="#">9.5. Variables de estudio</a>   | 25 |
| <a href="#">9.6. Análisis estadístico</a>   | 26 |
| <a href="#">9.7. Cronograma de actividades</a>                                    | 26 |
| <a href="#">9.8. Aspectos éticos</a>  | 26 |
| <a href="#">9.9. Aspectos de bioseguridad</a>                                     | 26 |
| <a href="#">9.10. Financiamiento de la investigación</a>                          | 27 |
| <a href="#">9.11. Declaración de conflicto de intereses de los investigadores</a> | 27 |
| <a href="#">10. Resultados</a>  | 28 |
| <a href="#">11. Discusión</a>   | 30 |
| <a href="#">12. Conclusiones</a>  | 35 |
| <a href="#">13. Referencias</a>   | 36 |
| <a href="#">14. Anexos</a>  | 40 |
| <a href="#">14.1. Consentimiento informado</a>                                    | 40 |
| <a href="#">14.2. Aprobación del Comité de Investigación</a>                      | 44 |

## 1. Resumen estructurado

**Introducción:** La enfermedad de Stargardt es una distrofia macular hereditaria, con un patrón de herencia autosómico recesivo. Esta enfermedad es causada por mutaciones en el gen *ABCA4* y se conoce que existen más de 900 variantes de la secuencia *ABCA4* causantes de la enfermedad. Se caracteriza por una disminución rápida, gradual y bilateral de la agudeza visual, aparición de escotomas centrales, discromatopsia, fotofobia y el desarrollo de motas amarillas-naranjas alrededor de la mácula y/o en la periferia media. La distrofia macular juvenil o enfermedad de Stargardt representa un 7% de todas las distrofias retinianas y es la distrofia macular juvenil más frecuente. Una descripción fenotipo-genotipo de dicha enfermedad en población mexicana podría brindar a individuos genéticamente susceptibles la posibilidad de un diagnóstico y rehabilitación tempranos. **Objetivo:** Realizar una descripción clínica y genética en pacientes con enfermedad de Stargardt en un grupo de pacientes mexicanos. **Metodología:** Análisis descriptivo de cinco pacientes sometidos a una exploración oftalmológica completa que incluyó fondo de ojo, microperimetría, tomografía de coherencia óptica, angiografía con fluoresceína y autofluorescencia. Se obtuvieron muestras de sangre en el laboratorio clínico institucional y se aisló el ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico a partir de leucocitos. Posteriormente, se llevó a cabo la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) de los 50 exones y uniones exón-intrón del gen *ABCA4*. Los productos de la PCR fueron purificados y secuenciados directamente mediante el método de terminadores fluorescentes *BigDye terminator*. **Resultados:** Se incluyeron 5 pacientes con una mediana de 24 años; 60% de género femenino; según la clasificación de enfermedad de Stargardt por su presentación clínica, la mayoría de los pacientes presentaron grado 4, en el ojo derecho (60%). Por el contrario, en ojo izquierdo la mayoría presentaron grado 3 (60%). Al evaluar la enfermedad por medio de tomografía de coherencia óptica (OCT, por sus siglas en inglés), 3 pacientes (60%) presentaron clase C. **Conclusiones:** Hubo diferencias y similitudes fenotípicas en los pacientes de esta cohorte en comparación con otras cohortes. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de estudios de genotipo-fenotipo en grandes cohortes y poblaciones diversas.

**Palabras clave:** Enfermedad de Stargardt; *ABCA4*; genotipo; México.

## 2. Abstract

**Introduction:** Stargardt disease is a hereditary macular dystrophy, with an autosomal recessive inheritance pattern. This disease is caused by mutations in the ABCA4 gene and more than 900 variants of the ABCA4 sequence are known to cause the disease. It is characterized by a rapid, gradual, and bilateral decrease in visual acuity, the appearance of central scotomas, dyschromatopsia, photophobia, and the development of yellow-orange specks around the macula and/or in the middle periphery. Juvenile macular dystrophy or Stargardt disease represents 7% of all retinal dystrophies and it is the most common juvenile macular dystrophy. A phenotype-genotype description of this disease in the Mexican population could offer genetically susceptible individuals the possibility of an early diagnosis and rehabilitation.

**Objective:** To carry out a clinical and genetic description in patients with Stargardt's disease in a group of Mexican patients. **Methodology:** A descriptive analysis of five patients who underwent a complete ophthalmological examination that included fundus, microperimetry, optical coherence tomography, fluorescein angiography and autofluorescence was performed. Blood samples were obtained in the institutional clinical laboratory and genomic deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated from leukocytes. Subsequently, the amplification by polymerase chain reaction (PCR) of the 50 exons and exon-intron junctions of the ABCA4 gene was carried out. The PCR products were purified and sequenced directly using the BigDye terminator fluorescent terminator method. **Results:** Five patients with a median of 24 years were included; 60% female; according to the Stargardt disease classification by its clinical presentation, most of the patients presented grade 4, in the right eye (60%). On the contrary, in the left eye the majority presented grade 3 (60%). When evaluating the disease by means of optical coherence tomography, 3 patients (60%) presented class C. **Conclusions:** There were phenotypic differences and similarities in this cohort compared to other international cohorts. Nonetheless, these findings reinforce the need for genotype-phenotype studies in large cohorts and diverse populations.

**Keywords:** Stargardt disease; ABCA4; genotype; Mexico.

### **3. Marco teórico**

#### **3.1. Introducción**

La enfermedad de Stargardt es la segunda enfermedad retiniana hereditaria más frecuente después de la retinitis pigmentosa. Se hereda de forma autosómica recesiva y se sabe que hasta un 2% de la población tiene mutaciones en tal gen. La pérdida progresiva de agudeza visual en las primeras décadas de la vida es característica de dicha patología. Inclusive, la agudeza visual puede disminuir hasta 20/200, pese a que la pérdida visual depende en primera instancia de la edad de presentación. En el año 1997 se identificó por vez primera el gen responsable de esta enfermedad (ABCR). Es frecuente que la edad de comienzo de la pérdida visual y su gravedad sean mayores en pacientes con lesiones amarillentas muy extendidas en el fondo ocular, estando el pronóstico visual determinado por la extensión macular. Por otro lado, en la actualidad se considera que el fundus flavimaculatus (FF) y la enfermedad de Stargardt son la misma entidad, representando el primero un estado más avanzado y extendido de almacenamiento de lipofucsina y de daño a nivel del epitelio pigmentario de la retina (EPR). En el presente trabajo se exponen algunas características clínicas y genéticas de un grupo de pacientes en población mexicana con enfermedad de Stargardt.

#### **3.2. Antecedentes**

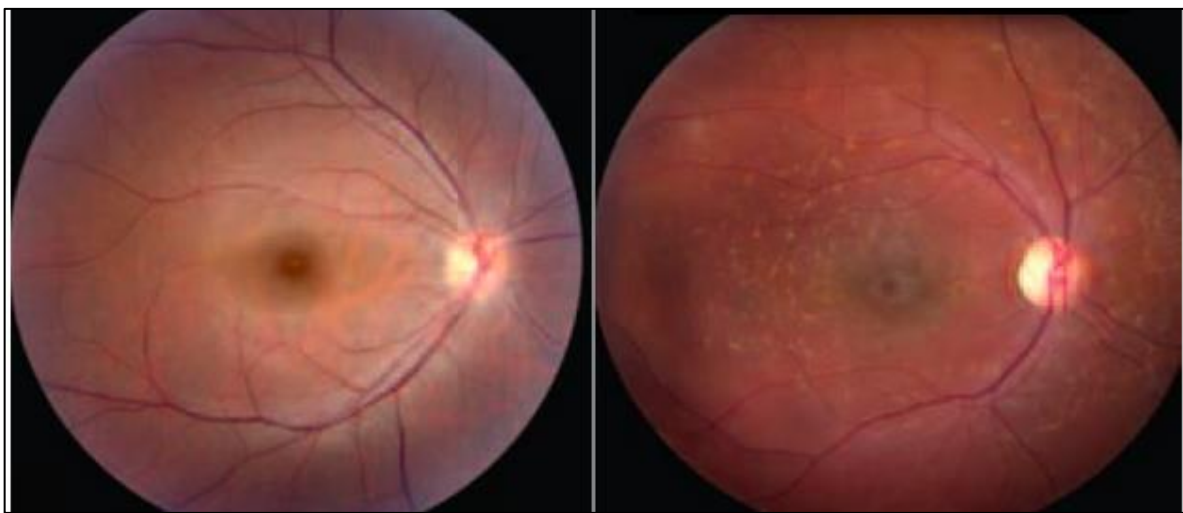
La enfermedad de Stargardt es la distrofia macular juvenil más común con una frecuencia de 1/10,000 individuos (1). Las distrofias retinianas son un grupo de enfermedades genéticas caracterizadas por la degeneración y atrofia de capas o células retinianas específicas. Hablando específicamente de la enfermedad de Stargardt, en dicha patología la afección se centra mayormente en los fotorreceptores y en el EPR localizados en el área macular, de ahí que también sea conocida como distrofia macular juvenil (2-4).

El hallazgo fundoscópico característico en la enfermedad de Stargardt son las motas (del inglés "flecks"). Las motas también presentan cierta variabilidad en cuanto a su número, tamaño, coloración y distribución; sin embargo, lo más común es que sean



manchas elongadas (a diferencia de las drusas que suelen ser más redondas) de una coloración amarillenta (aunque pueden ser desde blancas hasta anaranjadas) a nivel del epitelio pigmentario de la retina que pueden estar en contacto formando en ciertos ángulos que les otorgan la apariencia de una red o ramificación (*figura 1*).

Las motas pueden estar circunscritas al área foveolar ocasionando una atrofia central con una agudeza visual gravemente afectada, o presentar una distribución más periférica localizándose más de allá de las arcadas temporales y hacia el ecuador (5-6).



**Figura 1.** Lado derecho observamos una fotografía de fondo de ojo normal. Lado izquierdo fotografía de fondo de ojo en un paciente con enfermedad de Stargardt. Se observan las motas (manchas amarillas-blanquecinas) características de la enfermedad.

El acúmulo de bisretinoides en el epitelio pigmentario de la retina, no solo ocasiona la aparición de las motas, este material puede ser retenido dentro de las células del epitelio pigmentario de la retina haciéndolo de opaco para la luz visible y a la fundoscopia le otorga un color bermellón uniforme que oculta el detalle de la vasculatura coroidea subyacente. Lo anterior se hace más evidente durante el estudio de angiografía con fluoresceína, ya que al existir un bloqueo de la fluorescencia coroidea por el material intracelular en el epitelio pigmentario de la retina solo se observa un realce de la fluorescencia proveniente de los vasos retinianos. A este fenómeno se le conoce como “silencio coroideo” y se observa en un 65-85% de los pacientes con enfermedad de Stargardt (7). En otros pacientes el mismo acúmulo

dentro de las células del epitelio pigmentario de la retina provoca la apoptosis de algunas de estas células resultando en un adelgazamiento del mismo. Este adelgazamiento nos lleva a una atrofia del EPR que suele ser más pronunciada en el centro geométrico de la mácula otorgándole cierto brillo metálico a la zona, de ahí que en la práctica es común la referencia a este brillo como “en bronce amartillado” (tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación de enfermedad de Stargardt según su presentación clínica, patrón de autofluorescencia (AF), electroretinograma (ERG), tomografía de coherencia óptica (OCT) y genotipo.

| Clínica  | Patrón de AF   | ERG   | Genotipo  | OCT   |
|--|--|---|---|---|
| Grado 1<br>Confinado a mácula, bronce amartillado, anillo de flecks perifoveal discontinuo | Tipo 1:<br>Hipoautofluorescencia localizada en la fóvea rodeada de un fondo homogéneo con/sin focos perifoveolares hiper/hipoautofluorescentes | Grupo 1:<br>Electrorretinograma en patrón alterado con ERG de campo completo normal | Genotipo A<br>Dos o más variantes de delección                                  | Clase A<br>Flecks confinados a los segmentos externos |
| Grado 2<br>Flecks más allá de las arcadas temporales y/o nasales al nervio óptico          |  |   |   |   |
| Grado 3<br>Atrofia coriocapilar, reabsorción de flecks                                     | Tipo 2:<br>Hipoautofluorescencia localizada en la mácula rodeada de fondo heterogéneo con múltiples cambios de                                 | Grupo 2:<br>Electrorretinograma en patrón alterado con ERG alterado en respuesta    | Genotipo B<br>Una variante de delección asociado a > 1 variantes de inserción o | Clase B<br>Flecks en línea de elipsoides              |

|   |  |   |   |  |
|---|--|---|---|--|
| Grado 4<br>Atrofia<br>coriocapilar<br>y del EPR<br>extensa<br>secundaria<br>a mayor<br>reabsorción<br>de flecks | hipo/hiperautofluorescencia anterior a las arcadas vasculares  | generalizada de conos   | deleción  |  |
|   | Tipo 3:<br>Múltiples áreas de hipoautofluorescencia en el polo posterior con un fondo heterogeneo de zonas hipo/hiperautofluorescencia | Grupo 3:<br>Electrorretinograma en patrón alterado con ERG alterado en respuesta generalizada de bastones | Genotipo C<br>2 o más variantes de inserción/deleción | Clase C<br>Flecks que protruyen a la nuclear externa         |
|   |  |   |   | Clase D<br>Flecks localizados en la capa nuclear externa     |
|   |  |   |   | Clase E<br>Desprendimiento del EPR de apariencia drusenoidal |

Partiendo de lo anterior, podemos aseverar que independientemente del subgrupo en el que se encuentre un paciente basado en sus características clínicas, el factor desencadenante en todos los casos es el depósito de gránulos de lipofuscina en las células del epitelio pigmentario de la retina. A medida que progresa la enfermedad, el acúmulo de lipofuscina provoca degeneración del EPR y pérdida de fotorreceptores (8,9).

La lipofuscina es un desecho indigerible intracelular que es resistente a la degradación enzimática lisosomal (10). En el EPR esta sustancia forma cuerpos intracitoplasmáticos compuestos de lípidos autofluorescentes que son el resultado de intermediarios indigeribles formados durante la degradación de la membrana de los segmentos externos de los fotorreceptores (11). La acumulación de lipofuscina en el EPR es proporcional a la densidad de fotorreceptores y correlaciona con la actividad metabólica del EPR con respecto a la fagocitosis de los segmentos externos de los fotorreceptores (10). De este modo, las tasas más altas de formación de lipofuscina ocurren en la mácula y especialmente en la región perifoveal. Los niveles elevados de este compuesto ocasionan degeneración del fotorreceptor y el cuadro clínico de la enfermedad de Stargardt (10).

La enfermedad de Stargardt es una enfermedad hereditaria que se transmite con un patrón autosómico recesivo (en la mayoría de los casos) y se debe a mutaciones en el gen *ABCA4* (por sus siglas en inglés ATP-binding Cassette transporter Retina gene, subfamilia A, miembro 4 o ABCA4) (OMIM #601691), localizado en el locus STGD1 en el cromosoma 1p13-p21 (5,10). El gen *ABCA4* está constituido por 50 exones que codifican un RNAm de 8 Kb y que se traduce en una proteína de 2273 aminoácidos denominada “proteína rim” (RmP) que juega un papel fundamental en el ciclo de retinoides entre el fotorreceptor y el EPR (5,13,14).

Hasta la fecha se han descrito más de 1100 mutaciones distintas en el gen en pacientes con la enfermedad de Stargardt/*Fundus Flavimaculatus*. Estos cambios en la secuencia están distribuidos a lo largo de todo el gen y corresponden en su mayoría a mutaciones de sentido equivocado (15,16).

El diagnóstico de la enfermedad de Stargardt es clínico, aunque gracias a las nuevas tecnologías es posible confirmarlo mediante pruebas moleculares que conforme pasa el tiempo se han vuelto más accesibles y además nos proveen de información pronóstica si la mutación causal está bien descrita (17). La tomografía de coherencia óptica en estos pacientes muestra alteraciones de las capas externas retinianas y del epitelio pigmentario de la retina. Aunado a esto, mediante este estudio es posible determinar con precisión a que nivel se encuentran las motas (18). Si se utiliza la autofluorescencia se harán evidentes las zonas de atrofia del EPR, además de ciertos

cambios en el área macular como las lesiones en diana (19). Finalmente, los pacientes con enfermedad de Stargardt suelen tener electroretinogramas (ERG) normales hasta etapas finales de la enfermedad (20). En cuanto al daño campimétrico, los pacientes presentan una pérdida progresiva de la visión central (correspondiente a los 30° centrales de visión), con campos visuales periféricos casi normales al inicio de la enfermedad, sin embargo, puede extenderse a la retina periférica en etapas más avanzadas. Por medio de la campimetría de Goldmann o campimetría cinética se puede medir la presencia de un escotoma absoluto o relativo central en estos pacientes y darles seguimiento a través del tiempo. Este es un examen no invasivo que permite analizar tanto la visión periférica como la central mediante estímulos luminosos de distinta intensidad y tamaño que van delimitando las isópteras o áreas de visión. Específicamente hablando de microperimetría, existen estudios que reportan que el déficit funcional en pacientes con Stargardt es más pronunciado en el centro foveal y relativamente conservado en la mácula periférica (21). La microperimetría es muy útil en esta patología ya que puede caracterizar el daño macular por la pérdida de sensibilidad retiniana y correlacionarlo con los hallazgos anatómicos (22). Además, es una herramienta valiosa para el estudio y seguimiento de estos pacientes durante varios años. Finalmente, nos permite programar tratamientos de rehabilitación visual en pacientes que han perdido el punto de fijación y también nos permite entrenar la estabilidad de fijación en los pacientes con visión baja como ocurre en los pacientes con enfermedad de Stargardt (23,24).

Aunque actualmente no se cuenta con un tratamiento para la enfermedad de Stargardt, hay varias líneas de investigación en desarrollo. Como esta patología se debe a un acúmulo de bisretinoides, tanto en fotorreceptores como en el epitelio pigmentario de la retina, ciertas sustancias que regulan el ciclo visual (como la isotretinoína y la fenretinida) están siendo investigadas (25). Además se aconseja suspender o evitar el uso de suplementos que contengan vitamina A, ya que es un precursor de los bisretinoides (26).

A la fecha, la rehabilitación visual es la única intervención disponible para las personas con enfermedad de Stargardt. Incluye la evaluación de la visión de cerca y de lejos, la sensibilidad al contraste, la resolución y la campimetría visual.

Se ha descrito ampliamente que los pacientes con enfermedad de Stargardt responden bien a la magnificación (27-29). Las opciones disponibles son anteojos de distancia, lupas, anteojos con prismas, telescopios monoculares, filtros para mejorar el contraste, anteojos para leer y auxiliares con magnificación electrónicas.

Finalmente, las medidas preventivas para enlentecer la progresión de la enfermedad incluyen evitar la sobreexposición a la luz visible con gafas de sol y la ingesta de suplementos de vitamina A. Se recomienda programar evaluaciones oftalmológicas periódicas. En la actualidad, hay varias opciones terapéuticas en fase de desarrollo. En este contexto, diferentes tratamientos farmacológicos orales que previenen el acúmulo de lipofuscina en la enfermedad de Stargardt están siendo probados en ensayos clínicos de fase II y III.

#### **4. Pregunta de Investigación**

¿Cuáles son las características clínicas de la enfermedad de Stargardt en un grupo de pacientes mexicanos?

## 5. Planteamiento del problema

La enfermedad de Stargardt es una degeneración de la retina que implica una pérdida progresiva de la visión que generalmente se desarrolla en el periodo comprendido entre la infancia y la adolescencia, afectando tanto al sexo femenino como masculino. Esta patología no suele provocar ceguera absoluta, pero sí puede conllevar a una agudeza visual muy débil. Se presenta por causas genéticas, siendo necesario que los dos padres sean portadores del gen para poder desarrollarse. El trastorno se transmite siguiendo un modo de herencia autosómico recesivo o autosómico dominante. Se debe ofrecer consejo genético a las parejas en riesgo informándoles de la probabilidad de transmitir la mutación a la descendencia y ofrecer consejo genético (2,3,19).

Es un trastorno oftálmico poco frecuente que, por lo general, está caracterizado por una pérdida progresiva de la visión central asociada a un moteado macular y perimacular irregular blanco-amarillento que se aprecia en el fondo de ojo, y una lesión macular central atrófica con apariencia de "bronce golpeado" (6,7).

Es muy importante tomar en cuenta que el diagnóstico diferencial incluye la distrofia en patrón multifocal simulando la STGD1 y distrofias retinianas y/o maculares tales como la distrofia coroidea areolar central (DCAC), la acromatopsia, la distrofia de conos (DC) y la distrofia de conos y bastones (DCB). Además, hay dos tipos de distrofia macular autosómica dominante semejantes a la STGD1: la STGD3 causada por mutaciones en el gen ELOVL4 y la STGD4 asociada a mutaciones en PROM1.

El diagnóstico clínico se basa en exámenes oftalmológicos consistentes en pruebas de agudeza y campo visual, oftalmoscopia, entre otros; así como a través de la confirmación mediante pruebas genéticas del gen ABCA4 (7-10).

Por otro lado, debido a la gran variabilidad en la clínica de la enfermedad de Stargardt, el pronóstico depende de varios parámetros, dentro de los cuales se encuentran principalmente la edad de inicio y los hallazgos electroretinográficos, que pueden ayudar a proporcionar al paciente una indicación del curso de la enfermedad.



## 6. Justificación

La distrofia macular juvenil o enfermedad de Stargardt representa un 7% de todas las distrofias retinianas y es la distrofia macular juvenil más frecuente (1). En México, Chacón-Camacho et al. (30,31) identificaron una tasa de detección mutacional de 80% en 30 pacientes con enfermedad de Stargardt y han identificado un efecto fundador para la mutación p.1773V en poblados cercanos a la capital del estado de México.

Debido a la gran heterogeneidad de mutaciones en *ABCA4*, las mutaciones pueden encontrarse en cualquier parte de las secuencias codificantes o en las uniones exón-intrón de este gen. El estándar de oro para el diagnóstico en la actualidad es la secuenciación nucleotídica de la totalidad del gen (50 exones).

El presente protocolo está enfocado en la identificación y conocimiento de la correlación fenotipo-genotipo de la enfermedad, para potencialmente poder establecer un diagnóstico temprano que permita ofrecer en un futuro métodos de rehabilitación oportunos a los pacientes afectados.

## **7. Hipótesis**

### **Hipótesis nula:**

No es factible la realización de una descripción clínica y genética en pacientes mexicanos con diagnóstico de enfermedad de Stargardt.

### **Hipótesis alternativa:**

Es factible la realización de una descripción clínica y genética en pacientes mexicanos con diagnóstico de enfermedad de Stargardt.

## **8. Objetivos**

### **Objetivo General**

Realizar una descripción clínica y genética de pacientes mexicanos con enfermedad de Stargardt en un hospital de referencia.

### **Objetivos específicos**

- Identificar las mutaciones específicas de enfermedad de Stargardt.
- Identificar la relación clínico-genética que guarda la mutación con efecto fundador en población mexicana.
- Comparar las manifestaciones clínicas de pacientes con diagnóstico de enfermedad de Stargardt en la población mexicana con aquellas reportadas en el resto de la literatura.
- Determinar si existe un fenotipo predominante de la enfermedad de Stargardt en la población mexicana.

## **9. Material y métodos**

### **9.1. Diseño del estudio**

Estudio de cohorte prospectivo y descriptivo, realizado en el periodo del 1 de marzo de 2021 al 30 de septiembre de 2021, en pacientes con enfermedad de Stargardt del Instituto de Oftalmología “Fundación Conde de Valenciana I.A.P.”, en la Ciudad de México, México.

### **9.2. Criterios de selección**

*Criterios de inclusión:*

- Sujetos con diagnóstico clínico-tomográfico de enfermedad de Stargardt realizado por especialistas del servicio de Retina del Instituto de Oftalmología “Conde de Valenciana”.
- Sujetos que acepten realizarse el estudio clínico y genético y firmen la hoja de consentimiento informado.

*Criterios de exclusión:*

- Sujetos con enfermedad de Stargardt que decidan no firmar el consentimiento informado.
- Pacientes con diagnóstico de enfermedad de Stargardt que presenten patología retiniana concomitante.

*Criterios de eliminación:*

- Pacientes con información clínica o genética incompleta.

### **9.3. Procedimiento**

*Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico de sangre periférica*

Cada sujeto participante otorgó su permiso para el estudio genético mediante la firma de una carta de información y consentimiento informado. Se obtuvieron 2 ml de sangre por punción venosa en cada sujeto a partir de la cual se aisló el ADN genómico mediante el kit *Quickgene ADN Whole Blood (DB-S, FujiFilm Co.)*. Brevemente, se colocaron 30 ul de solución EDB (proteasa) en un microtubo eppendorf de 1.5 ml. Posteriormente se agregó 250 ul de sangre total (se recomendó el uso de sangre total) y 250 ul de solución LDB (buffer de lisis). Inmediatamente se mezcló el tubo 5 veces invirtiéndolo de arriba hacia abajo, se agitó con vórtex a máxima velocidad durante 15 segundos y se centrifugó durante unos segundos. La muestra se incubó a 56°C durante 2 minutos y posteriormente se agregaron 250 ul de etanol al 99%. Se repitió la agitación con vórtex durante 15 segundos y la muestra se centrifugó unos segundos.

El aislamiento de ADN se realizó dentro de los siguientes 30 minutos. Se transfirió el lisado dentro del “cartucho” del sistema automático de aislamiento de ácidos nucleicos QuickGene-810 (se vació todo el contenido del microtubo en el cartucho) y se procedió a la extracción automatizada. El ADN genómico obtenido se resuspendió en un volumen aproximado de 200ul. Se almacenó la muestra a una temperatura de -20°C hasta su utilización.

*Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) del gen ABCA4.*

El análisis molecular del gen *ABCA4* consistió en amplificación por PCR y secuenciación nucleotídica automatizada. Se efectuó la amplificación por PCR de cada uno de los exones y de las uniones exón/intrón de este gen (50 exones) a partir del ADN de los sujetos afectados con la enfermedad y de sus familiares cuando estuvieron disponibles. Se crearon (realizados por nuestro grupo de investigación) pares de oligonucleótidos derivados de la secuencia normal de cada exón y que se muestran la *Tabla 2*.

**Tabla 2.** Oligonucleótidos para la amplificación por PCR de los 50 exones del gen ABCA4.

| Número de Exón | Secuencia            | Pb  | T.a (°C) |
|----------------|----------------------|-----|----------|
| 1F             | AGCCAGAGGCGCTCTTAACG | 203 | 58.7     |
| 1R             | GTTTATTTGCTCCACACCTC |     | 52.5     |

|     |                       |     |      |
|-----|-----------------------|-----|------|
| 2F  | TAGCACCCTGAACCTTTCTCT | 191 | 53.2 |
| 2R  | AAGGCCAGACCAAAGTCTC   |     | 56.6 |
| 3F  | CCTGCTTGGTCTCCATGAC   | 249 | 56.0 |
| 3R  | ACGTGAAGGGGTGTGCAAC   |     | 56.0 |
| 4F  | GCTATTTCTTATTAATGAGGC | 260 | 52.0 |
| 4R  | CCAACCTCTCCCTGTTCTTTC |     | 54.6 |
| 5F  | GACCCATTTCCCCTTCAAC   | 230 | 53.9 |
| 5R  | AGGCTGGGTGCTTCCCTC    |     | 57.6 |
| 6F  | CCTGTGCGCATGTAACACAA  | 345 | 54.6 |
| 6R  | AGGAATCACCTTGCAATTGG  |     | 52.5 |
| 7F  | TGCCTATGTGTGTATATACC  | 218 | 50.5 |
| 7R  | TAAGTGGGGTAAATGGTGG   |     | 51.7 |
| 8F  | GAGCATTGGCCTCACAGCAG  | 360 | 58.7 |
| 8R  | TTAACCAACATGAGAGGCC   |     | 51.7 |
| 9F  | AAGCAATGGGGAGTTTCTGT  | 287 | 52.5 |
| 9R  | GATGTGCTACCAGGAAG     |     | 49.8 |
| 10F | GACACAACCAAAGTTCTCTCT | 301 | 55.8 |
| 10R | TGATCTAACTCCAATAGCG   |     | 49.5 |
| 11F | CTAAGCAGAGCAGTGACTG   | 314 | 56.0 |
| 11R | ACTTGACTTGCTAAGGGAG   |     | 51.7 |
| 12F | AGTTGAGTCTTTGCAGTTGG  | 306 | 52.5 |
| 12R | CTGACTTTGGAGAAATGAG   |     | 52.5 |
| 13F | GAGGTGTGAGTGAGCTATCC  | 280 | 56.6 |
| 13R | CCCATTAGCGTGTCTATGG   |     | 53.1 |
| 14F | CCTCTACCAGGTACAGAGC   | 329 | 56.0 |
| 14R | GGGAAAGGAACCAAAGTATTC |     | 58.1 |
| 15F | AGGCTGGTGGGAGAGAGC    | 407 | 57.6 |
| 15R | AGTGGACCCCCTCAGAGG    |     | 57.6 |
| 16F | CTGTTGCATTGGATAAAAGGC | 330 | 53.2 |
| 16R | GATGAATGGAGAGGGCTGG   |     | 56.0 |
| 17F | CTGCGGTAAGGTAGGATAGGG | 232 | 59.1 |
| 17R | CACACCGTTTACATAGAGGGC |     | 57.1 |
| 18F | CCTCTCCCCTCCTTTCCTG   | 279 | 58.2 |
| 18R | GTCAGTTTCCTAGGCTTC    |     | 50.8 |
| 19F | TGGGGCCATGTAATTAGGC   | 322 | 53.9 |
| 19R | TGGGAAAGAGTAGACAGCCG  |     | 52.5 |
| 20F | ACTGAACCTGGTGTGGGG    | 325 | 55.4 |
| 20R | TATCTCTGCCTGTGCCAG    |     | 56.0 |
| 21F | GTAAGATCAGCTGCTGGAAG  | 346 | 54.6 |

|     |                          |     |      |
|-----|--------------------------|-----|------|
| 21R | GAAGCTCTCCTGCTCCAAGC     |     | 58.7 |
| 22F | AGGTACCCCCACATTGCC       | 201 | 55.4 |
| 22R | AGCCCAGCCCAGGAGACT       |     | 57.6 |
| 23F | TGCTGTACACCCTTTACCAAC    | 346 | 55.2 |
| 23R | TAGCCATGTCTGGAGTGGCA     |     | 56.6 |
| 24F | AGGGAGAGGCTGTCATGGAA     | 226 | 56.6 |
| 24R | TGCATCACAACAGGACACAC     |     | 54.6 |
| 25F | GGTAACCTCACAGTCTTCC      | 379 | 53.9 |
| 25R | GGGAACGATGGCTTTTTGC      |     | 53.9 |
| 26F | CAAAACAGAGCTTGGGTTAG     | 191 | 52.5 |
| 26R | ACTTTTCGAGATGGAACCTGG    |     | 52.5 |
| 27F | GCTACCAGCCTGGTATTTTCATTG | 493 | 59.8 |
| 27R | GTTATAACCCATGCCTGAAG     |     | 52.5 |
| 28F | CCACCAGGGGCTGATTAG       | 409 | 55.4 |
| 28R | GGCAGATACATTAAGTTCC      |     | 49.5 |
| 29F | AGGCTCTGAGTTGCATGATG     | 241 | 54.6 |
| 29R | CTGCCATCTTGAACCCACC      |     | 49.5 |
| 30F | GTCAGCAACTTTGAGGCTG      | 314 | 53.9 |
| 30R | ACTCAGGAGATACCAGGGAC     |     | 56.6 |
| 31F | TATAAGTCCTCAAGTTCCAGG    | 198 | 53.2 |
| 31R | AATATCTTCTACAGGGAGCC     |     | 52.5 |
| 32F | GAAAGTTAACGGCACTGCT      | 185 | 51.7 |
| 32R | CATGGCTGTGAGGTGTGC       |     | 55.4 |
| 33F | TTCATGTTTCCCTACAAAACCC   | 265 | 53.9 |
| 33R | CATGAGAGTTTCTCATTTCATGG  |     | 53.9 |
| 34F | GCTTAACTACCATGAATGAG     | 275 | 50.5 |
| 34R | ATTCCTTGCTAGATTTTCAGC    |     | 50.5 |
| 35F | GCAGCGTCTCAGATGTCCTC     | 284 | 58.7 |
| 35R | CGGTGGTGAGAATCCTCTCA     |     | 56.6 |
| 36F | GTATCTTCTCCTCCTTCTGC     | 305 | 54.6 |
| 36R | ACACACAAGCTCCACCTTG      |     | 53.9 |
| 37F | TTGCAGAGCTGGCAGCAG       | 226 | 55.4 |
| 37R | CCACCAGGCTTCTCTTCAG      |     | 56.0 |
| 38F | GGAATGGAATGTGGAACCTCC    | 252 | 54.6 |
| 38R | CACATACTCTACTATCCTAC     |     | 50.5 |
| 39F | TGCTGTCCTGTGAGAGCATC     | 268 | 56.6 |
| 39R | TCCCAGCTTTGGACCCAG       |     | 55.4 |
| 40F | AGGTCTGTGGGGTGAGCTG      | 236 | 58.2 |
| 40R | TCTGGATGCCCTGAGCTGC      |     | 58.2 |

|     |                             |     |      |
|-----|-----------------------------|-----|------|
| 41F | TGGAAGAGAGGTCCCATGGA        | 261 | 56.6 |
| 41R | GCAACATCATGCCAACTG          |     | 50.8 |
| 42F | ATGTCAATATGTAACCTCCT        | 237 | 48.4 |
| 42R | AGAGCTGATGTTCCGGAAGCC       |     | 56.6 |
| 43F | CTTACCCTGGGGCCTGAC          | 277 | 57.6 |
| 43R | CTCAGAGCCACCCTACTATAG       |     | 57.1 |
| 44F | TAGCTCTATGGTCATCCCT         | 289 | 51.7 |
| 44R | TTCTCATCTCCAAGAGAATGC       |     | 53.2 |
| 45F | GTTTGGGGTGTTTGCTTGTC        | 257 | 54.6 |
| 45R | ACCTATTTCCCAACCCAAGAG       |     | 57.6 |
| 46F | TGTCAGCTCATCCTCCACAG        | 258 | 56.6 |
| 46R | GAGGTGAGCAGGAGAGGATT        |     | 56.6 |
| 47F | TCACATCCCACAGGCAAGAG        | 228 | 56.6 |
| 47R | AGGTGGATCCACAGAAGGC         |     | 56.0 |
| 48F | GATTACCTTAGGCCCAACC         | 366 | 53.9 |
| 48R | ACACTGGGTGTTCTGGACC         |     | 56.0 |
| 49F | GTGTAGGGTGCTGTTTTCC         | 220 | 53.9 |
| 49R | AAGCCCAGTGAACCAGCTGG        |     | 58.7 |
| 50F | CTAAAAGTAGTACAGCATC         | 547 | 47.7 |
| 50R | <b>GGAGCTATGCACCCATCTAA</b> |     | 54.6 |

**Abreviaturas:** Pb: pares de bases del amplicón resultante; T.a: temperatura de alineamiento de los oligonucleótidos; F: sentido; R: antisentido.

Cada reacción de amplificación de PCR tuvo un volumen final de 15 ul que contenía 7.5 ul de HotStarTaq ADN polimerasa (compuesta por buffer de PCR 10x que contiene 25mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM de cada dNTP y 2.5 unidades de ADN polimerasa HotStarTaq), de 50-100 ngs de ADN genómico (volumen variable), 1mM del oligonucleótido correspondiente (sentido y antisentido) y agua bidestilada c.b.p. 15 ul. Se utilizó un programa de temperaturas que incluyó 1 ciclo de 15 min a 95°C para la desnaturalización inicial, 35 ciclos con 1 min de desnaturalización a 95°C, 1 min de alineamiento a temperaturas específicas para cada par de oligonucleótidos (Tabla 1) y 1 min a 72°C para la extensión. Por último, se realizó 1 ciclo a 72°C por 10 min para la extensión final.

Los productos obtenidos de la amplificación se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con tinción de bromuro de etidio para identificar las bandas específicas con el producto amplificado, utilizando como referencia un marcador estándar de peso molecular de 100 pares de bases (pb). Se reconocieron las bandas



de interés y se escindieron del gel para la purificación del producto de ADN amplificado utilizando el método de purificación por columna (Promega) o el método de unión a sílica (Qiagen).

La concentración del ADN amplificado obtenido de la purificación se determinó por medio de la comparación de la intensidad de las bandas obtenidas con respecto a un marcador de masa estándar (Low DNA Mass Ladder, Invitrogen) en un gel de agarosa al 1.2% teñido con bromuro de etidio.

### *Secuenciación automatizada de los productos de PCR*

A partir de cada amplificado se realizaron nuevas reacciones de PCR para la secuenciación nucleotídica de los 50 exones de ABCA4. Cada reacción de 10  $\mu$ l incluyó 2  $\mu$ l del reactivo BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) que contiene los cuatro dideoxinucleótidos trifosfatados (ddNTPs) marcados por fluorescencia, deoxinucleótidos trifosfatados (dNTPs) no marcados, Tris-HCl (Ph 9.0),  $MgCl_2$  y la enzima ampliTaQ polimerasa; además se agregó 1  $\mu$ l del oligonucleótido correspondiente a una concentración de 10  $\mu$ M, 10-20 ngs del ADN de cada producto de PCR purificado y agua bidestilada para un volumen final de 10  $\mu$ l. Para esta reacción de PCR se utilizó un programa de 25 ciclos de termociclaje que incluyen 30 segundos a 97°C para la desnaturalización, 15 seg a 50°C para el alineamiento y 4 min a 60°C para la extensión.

Los productos de esta segunda amplificación de PCR se purificaron por medio de columnas Centri-Sep (Applied Biosystems) para eliminar el exceso de oligonucleótido y de ddNTPs fluorescentes. Cada muestra se resuspendió en 20  $\mu$ l de formamida y posteriormente se desnaturalizó a 95°C por 5 min en un termociclador. Los productos se analizaron por electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI Prism 310 y las secuencias de ADN obtenidas en sujetos enfermos se compararon con las secuencias silvestres del gen ABCA4 (*ENST00000370225*) para identificar posibles mutaciones.

Cuando se identificaron mutaciones potenciales no descritas previamente en la literatura, se descartó que éstas correspondieran a un polimorfismo benigno mediante el análisis del ADN de al menos de 75 sujetos (150 alelos) sin la enfermedad procedentes del Banco de ADN de la Unidad de Investigación del Instituto de Oftalmología “Conde de Valenciana”.

## Análisis de predicción funcional de mutaciones

Las mutaciones nuevas identificadas como responsables de la enfermedad fueron analizadas mediante el programa de computación Polyphen (**polymorphism phenotyping**, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>).

## Realización de estudios clínicos de gabinete

Con la finalidad de complementar el estudio genético de los pacientes, se realizó tomografía de coherencia óptica para completar la descripción de la enfermedad.

### 9.4. Tamaño de muestra

El tipo de muestreo empleado fue consecutivo, de tipo no probabilístico, en el que se incluyó un total de 5 pacientes como grupo inicial. Se suele diagnosticar a un paciente con dicha patología cada mes en el Instituto, por lo que en un periodo de 7 meses se esperó reclutar a 7 pacientes sin contar pérdidas. Por lo que con un intervalo de confianza de 95% y un error beta de 20%, se realizó un cálculo de muestra en el que se estableció que el grupo piloto del presente estudio contaría con 7 pacientes, sin embargo solo se lograron reclutar 5 debido a la infrecuencia de la enfermedad y a los criterios estrictos de selección. La fórmula empleada se muestra a continuación:

$$\text{Tamaño de la muestra} = \frac{\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N}\right)}$$

N = tamaño de la población • e = margen de error (porcentaje expresado con decimales) • z = puntuación z

### 9.5. Variables de estudio

| Variable                | Escala de medición             | Tipo de variable     | Definición operacional              | Medida |
|-------------------------|--------------------------------|----------------------|-------------------------------------|--------|
| Enfermedad de Stargardt | Categoría, nominal, dicotómica | Variable dependiente | Diagnóstico patológico por medio de | Si No  |

|                                |                                 |                        |   |                    |
|--------------------------------|---------------------------------|------------------------|---|--------------------|
|                                |                                 |                        | estudios clínicos y genéticos.  |                    |
| Edad                           | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Años cumplidos al diagnóstico.  | Vgr. 34,35,67,43   |
| Agudeza visual (ojo derecho)   | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Capacidad del ojo derecho para reconocer la forma de los objetos e identificar las imágenes que llegan a través del nervio óptico medida mediante la escala de Snellen.   | Vgr. 20/400, 3/200 |
| Agudeza visual (ojo izquierdo) | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Capacidad del ojo izquierdo para reconocer la forma de los objetos e identificar las imágenes que llegan a través del nervio óptico medida mediante la escala de Snellen. | Vgr. 20/400, 3/200 |
| Grado clínico (ojo derecho)    | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Clasificación de enfermedad de Stargardt según su presentación clínica, en ojo derecho.   | Vgr. 3, 4          |
| Grado clínico (ojo izquierdo)  | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Clasificación de enfermedad de Stargardt según su presentación clínica, en ojo izquierdo.   | Vgr. 3, 4          |
| Grado por OCT (ojo derecho)    | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Clasificación de enfermedad de Stargardt del ojo derecho medido por prueba que emplea un haz de luz para realizar una tomografía de las estructuras oculares.             | Vgr. D, E, C       |
| Grado por OCT (ojo izquierdo)  | Cuantitativa, numérica discreta | Variable independiente | Clasificación de enfermedad de Stargardt del ojo izquierdo medido por prueba que emplea un haz de luz para realizar una   | Vgr. D, E, C       |

|  |  |  |   |  |
|--|--|--|---|--|
|  |  |  | tomografía de las estructuras oculares. |  |
|--|--|--|---|--|

## 9.6. Análisis estadístico

Se empleó estadística descriptiva, utilizando frecuencias y porcentajes para las variables categóricas y medidas de tendencia central de acuerdo a la distribución para las variables numéricas, utilizando la media con desviación estándar o la mediana con rangos mínimos y máximos, según correspondiera. Se recolectó la información de los pacientes en una base de datos de Microsoft Excel y el análisis estadístico se llevó a cabo en el programa SPSS versión 23.

## 9.7. Cronograma de actividades

| Meses  | Mar-Abr | May-Jun | Jul-Ago | Sep |
|--|---------|---------|---------|-----|
| Número de meses  | 1-2     | 3-4     | 5-6     | 7   |
| Reclutamiento de pacientes                                 | X       | X       | X       | X   |
| Realización de estudios clínicos                           |         | X       | X       |     |
| Realización de estudios genéticos                          |         | X       | X       |     |
| Interpretación de estudios y correlación genotipo-fenotipo |         |         |         | X   |
| Creación de base de datos                                  |         |         |         | X   |
| Análisis de datos  |         |         |         | X   |

## 9.8. Aspectos éticos

El presente estudio fue conducido de acuerdo a los principios éticos de la declaración de Helsinki. Se protegió el bienestar y la seguridad de los participantes en la investigación asignando números secuenciales en la base de datos sin utilizar ni el nombre ni el registro institucional de los pacientes.

## 9.9. Aspectos de bioseguridad

En este estudio se utilizaron agentes biológicos manejados de acuerdo a los estándares de calidad y bioseguridad establecidos por la unidad de investigación del

Instituto de Oftalmología “Conde de Valenciana”. No se utilizaron agentes corrosivos, explosivos, tóxicos o inflamables.

#### **9.10. Financiamiento de la investigación**

Ninguno.

#### **9.11. Declaración de conflicto de intereses de los investigadores**

No existió ningún interés por parte de ningún investigador.

## 10. Resultados

Se incluyeron 5 pacientes con una media de edad de 27 años ( $\pm$  10.27 años) y una mediana de 24 años (rangos, 15-39). Tres pacientes eran de género femenino (60%) y 2 masculino (40%). La *Tabla 3* muestra las características demográfica y clínicas de los pacientes. De acuerdo a la escala de Snellen, la agudeza visual en el ojo derecho fue 20/400 en la mayoría de los pacientes (n=4, 80%) y 3/200 en un paciente (20%). Con la misma escala, la agudeza visual del ojo izquierdo fue 20/400 en 2 pacientes (40%), 20/200 en 2 pacientes (40%) y 20/300 en 1 paciente (20%).

Según la clasificación de enfermedad de Stargardt por su presentación clínica, la mayoría de los pacientes presentaron grado 4, atrofia coriocapilar y del EPR extensa secundaria a mayor reabsorción de flecks en el ojo derecho (n=3, 60%) y grado 3 (n=2, 40%). Por el contrario, en ojo izquierdo la mayoría presentaron grado 3, atrofia coriocapilar y reabsorción de flecks (n=3, 60%) y grado 4 (n=2, 40%).

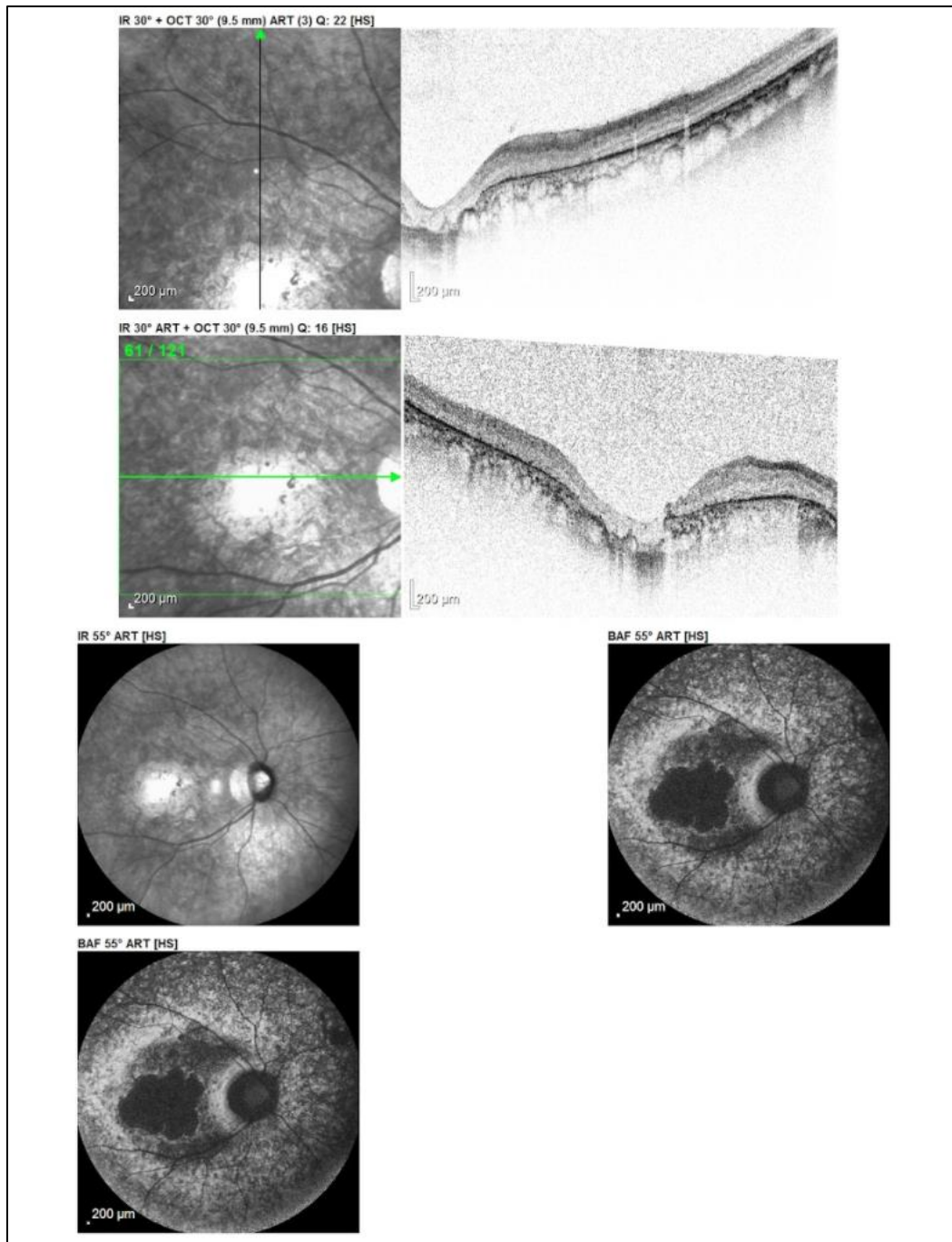
Al evaluar la enfermedad por medio de tomografía de coherencia óptica (OCT, por sus siglas en inglés), 3 pacientes (60%) presentaron clase C, flecks que protruyen a la capa nuclear externa y 2 pacientes (40%) clase E, desprendimiento del EPR de apariencia drusenoide. Por otro lado, en el ojo izquierdo, 2 pacientes (40%) presentaron clase C, 2 pacientes (40%) clase E y 1 clase D, flecks localizados en la capa nuclear externa. En la *Figura 2* se muestra la descripción de la OCT de la paciente 1.

**Tabla 3.** Características demográficas y clínicas de 5 pacientes con enfermedad de Stargardt.

| Variable              | Caso 1   | Caso 2   | Caso 3    | Caso 4   | Caso 5    |
|-----------------------|----------|----------|-----------|----------|-----------|
| Edad en años          | 39       | 34       | 24        | 15       | 18        |
| Género                | Femenino | Femenino | Masculino | Femenino | Masculino |
| <b>Agudeza visual</b> |          |          |           |          |           |
| Ojo derecho           | 20/400   | 20/400   | 20/400    | 20/400   | 3/200     |
| Ojo izquierdo         | 20/200   | 20/300   | 20/200    | 20/400   | 20/400    |
| <b>Grado clínico</b>  |          |          |           |          |           |
| Ojo derecho           | 4        | 4        | 4         | 3        | 3         |
| Ojo izquierdo         | 3        | 4        | 4         | 3        | 3         |
| <b>Grado OCT</b>      |          |          |           |          |           |

|               |   |   |   |   |   |
|---------------|---|---|---|---|---|
| Ojo derecho   | E | E | C | C | C |
| Ojo izquierdo | D | E | E | C | C |

**Abreviaturas:** d.e: desviación estándar; OCT: tomografía de coherencia óptica.



**Figura 2.** Tomografía de coherencia de ojo derecho de un paciente femenino de 39 años de edad en donde se aprecia clínicamente atrofia de coriocapilar y epitelio pigmentado de la retina. En los cortes se puede apreciar atrofia generalizada de todas las capas de la retina asociada a imágenes compatibles con desprendimientos del epitelio pigmentado de la retina de apariencia drusenoide.

## 11. Discusión

Hay diferentes tipos de retinopatías, siendo las más frecuentes la degeneración macular asociada a la edad, la distrofia de conos y bastones, la enfermedad de Stargardt, la amaurosis congénita de Leber y la retinosis pigmentaria. En este sentido, la enfermedad de Stargardt es una patología ocular que produce pérdida de la visión tanto en niños como en adultos jóvenes y es de tipo hereditaria. Para que existan los síntomas de una clásica enfermedad de Stargardt, los genes defectuosos (gen ABCA4) deben ser heredados de ambos progenitores. Alguien que tenga el gen de un solo progenitor es portador de la enfermedad de Stargardt pero no desarrolla síntomas. Otras formas de la enfermedad de Stargardt provienen del gen de un solo progenitor, pero son casos infrecuentes (4,5).

Uno de los problemas principales de esta patología es el tratamiento ya que actualmente no existe ninguna alternativa terapéutica en estos pacientes. Se han ensayado en modelos murinos tratamientos genéticos para tratar de reducir la síntesis de A2E con resultados prometedores (32), lo que lleva a pensar que la terapia génica será el tratamiento disponible en el futuro para estos pacientes. Se trata de una enfermedad con un pronóstico muy sombrío, en que los hallazgos fundoscópicos y la pérdida visual son simétricos en ambos ojos, aunque en ocasiones uno de los dos puede estar más afectado. También se sabe que los miembros de una misma familia suelen evolucionar igual en cuanto al comienzo, desarrollo y gravedad de la pérdida visual, aunque existen excepciones, ya que puede haber heterogeneidad genética en una misma familia.

En el presente estudio se reportan 5 casos de adultos jóvenes con dicha enfermedad, diagnosticados en un hospital de referencia de la Ciudad de México. Se describieron las características clínicas asociadas con la patología, después de haber realizado un diagnóstico minucioso tanto clínico, como de imagen y genética.

No obstante, al ser una enfermedad relativamente infrecuente a nivel mundial, los reportes en su mayoría son casos clínicos con un número reducido. Por ejemplo, Sambricio y col. (33) reportaron 4 casos de enfermedad de Stargardt/fundus flavimaculatus exponiendo algunas consideraciones acerca del diagnóstico y



evolución de esta distrofia retiniana. Los autores mencionan en su reporte que la angiografía fluoresceínica ha servido tradicionalmente para diagnosticar y clasificar esta patología y que además, la OCT proporciona nueva información acerca de la localización de los flecks retinianos, así como del estado del EPR y de la capa de fotorreceptores, lo cual es de utilidad para determinar el pronóstico visual de estos pacientes. A su vez, mencionan que las alteraciones en la línea elipsoide, en el grosor foveal o en la localización de los flecks ayuda a realizar un pronóstico visual para el paciente. La media de edad de los 4 pacientes (3 hombres y una mujer) fue 38.25 años con una desviación estándar de 10.21 años y la mediana de edad 38 (rango, 26-50 años), lo cual es mucho mayor que en nuestro estudio (una década de diferencia aproximadamente). Así mismo, nuestro estudio incluyó un porcentaje mayor de mujeres.

Existe un reporte de caso publicado en el 2019 en Cuba (34) de una paciente de género femenino de 35 años con enfermedad de Stargardt, atendida en una unidad básica avanzada en salud del municipio de Vila Nova do Piauí, Brasil, que presentaba baja capacidad visual. Presentó una lesión macular localizada en la región foveal, de aspecto bronceado y pálido en la región temporal de la papila óptica. A nivel histológico, se produjo un cúmulo de material tipo lipofuscina en las células del epitelio pigmentario de la retina, por la mutación del gen ABCA4.

Bernal et al. (35) presentaron 2 casos de esta enfermedad en pacientes de Gran Canaria como manifestación de los distintos fenotipos que puede adquirir y expusieron los resultados de las distintas pruebas complementarias realizadas a los pacientes. Los autores determinaron que la angiografía fluoresceínica ha servido tradicionalmente para diagnosticar y clasificar la enfermedad de Stargardt y que la tomografía óptica de coherencia proporciona nueva información, coincidiendo con los reportes de los casos de los autores españoles (33). Uno de los pacientes tenía 57 años y el otro 34 años, ambos de género masculino.

En México hay dos reportes de los años 2012 (31) y 2013 (30) por Chacón-Camacho y cols. En el primero se incluyeron en el estudio 14 casos esporádicos y 8 familiares de enfermedad de Stargardt de origen mexicano. Los participantes se sometieron a un examen oftalmológico completo y se obtuvieron muestras de sangre por

venopunción para extraer el ADN genómico. La amplificación por PCR de los 50 exones y las uniones intrón-exón del gen ABCA4 se logró utilizando pares de cebadores derivados de la secuencia ABCA4. Los productos de PCR se purificaron y secuenciaron directamente usando el método de terminadores de cadena didesoxi (BigDye). Se analizó el ADN de un total de 100 individuos de control para validar nuevas mutaciones de ABCA4. Los autores reportaron que 20 (91%) de los 22 pacientes portaban al menos una mutación ABCA4: 8 pacientes portaban cambios homocigotos, 5 eran heterocigotos compuestos y 7 portaban una mutación patógena ABCA4 heterocigótica. De 30 probables cambios en la secuencia patogénica, 28 fueron mutaciones sin sentido, incluidas 6 mutaciones novedosas, una nueva mutación con desplazamiento de marco y una nueva mutación sin sentido; por lo que concluyeron que dicho estudio representaba el primer informe de mutaciones ABCA4 en pacientes latinoamericanos con enfermedad de Stargardt. Se reconocieron varias mutaciones ABCA4 nuevas y previamente informadas (31). Asimismo, el segundo reporte, incluyó a 31 sujetos no relacionados con la enfermedad. El análisis molecular en el grupo total de 62 alelos permitió la identificación de 46 alelos ABCA4 mutantes que portaban 29 mutaciones patógenas diferentes asociadas a enfermedades. Se detectaron dos alelos mutantes ABCA4 en 20 de los 31 pacientes (64%), se identificó un solo alelo de la enfermedad en seis (19%) y no se detectaron alelos mutantes en cinco de los casos (16%). La mayoría de los pacientes con dos mutaciones ABCA4 (11/20, 55%) eran heterocigotos compuestos. Doce variantes eran mutaciones nuevas de ABCA4. Las sustituciones de nucleótidos fueron el tipo de variación más frecuente, ocurriendo en 26 de 29 (90%) mutaciones diferentes. Las dos mutaciones más comunes en nuestro estudio fueron los cambios de sentido p.A1773V y p.G818E, que se identificaron en ocho (17%) y siete (15%) del total de 46 alelos asociados a la enfermedad, respectivamente. Los análisis de haplotipos de SNP intragénicos en cuatro sujetos portadores de la mutación p.A1773V apoyaron un origen común para esta mutación (30). Los autores concluyeron que ese fue el primer informe de cribado molecular ABCA4 en pacientes latinoamericanos con enfermedad de Stargardt y que sus resultados ampliaron el espectro mutacional de la enfermedad al agregar 12 variantes patogénicas novedosas de ABCA4 y respaldan la aparición de un efecto fundador para la mutación p.A1773V en la población mexicana (30).

De manera importante, los resultados genéticos del presente estudio coinciden con aquellos reportados en los estudios previos realizados en población mexicana.

Por el contrario, con respecto a la literatura internacional, un estudio multicéntrico llevado a cabo en Alemania (36) analizó muestras de ADN de 335 pacientes con enfermedad de Stargardt en busca de mutaciones de ABCA4 en sus 50 exones codificantes y secuencias intrónicas adyacentes mediante tecnología de matriz de resecuenciación o secuenciación de próxima generación y se seleccionaron partes del intrón 30 y 36 mediante secuenciación de didesoxinucleótidos de terminación de cadena de Sanger. Se usó un ensayo de empalme in vitro para probar variantes seleccionadas por su comportamiento de empalme. Mediante un análisis de regresión logística, evaluaron la asociación de alelos ABCA4 comunes, mientras que un modelo de regresión logística multivariante calculó una puntuación de riesgo genético. El análisis de Schulz y cols. (36) identificó 148 mutaciones patógenas o probablemente patógenas, de las cuales 48 constituían alelos de enfermedades asociadas a ABCA4 no publicados previamente. Se encontraron cuatro variantes intrónicas profundas raras una vez en 472 alelos analizados. Además, identificaron seis variantes comunes que modulan el riesgo.

Otro estudio multicéntrico de varios países, entre ellos Estados Unidos, Japón y diversos países europeos (37) reportaron los resultados de 345 participantes con un diagnóstico clínico de enfermedad de Stargardt que albergaban al menos una variante de ABCA4 que causaba la enfermedad. Se revisaron todas las variantes y se realizó un análisis in silico, incluida la frecuencia de alelos en las bases de datos públicas y las predicciones de patogenicidad. Los participantes con múltiples variantes patogénicas probables se clasificaron en cuatro subgrupos nacionales, con un análisis de comparación posterior de la frecuencia de alelos para cada alelo prevalente. Se identificaron 211 variantes patogénicas probables en la cohorte total, incluida la falta de sentido (63%), la alteración del sitio de empalme (18%), la parada (9%) y otras; 50 variantes eran novedosas y se detectaron variantes exclusivamente sin sentido en 139 (50%) de 279 pacientes con múltiples variantes patogénicas. Las tres variantes más prevalentes de estos pacientes con variantes patogénicas múltiples fueron p.G1961E (15%), p.G863A (7%) y c.5461-10 T> C (5%). El análisis de subgrupos reveló una diferencia estadísticamente significativa entre las cuatro naciones de reclutamiento en la frecuencia alélica de nueve variantes.

Dentro de las limitantes del presente estudio se encuentra el tamaño de muestra reducido y pacientes de un solo centro, sin embargo, aunque existe una alta heterogeneidad alélica en ABCA4 con más de 1,200 variantes causantes de enfermedades reportadas hasta la fecha, existen mutaciones fundadoras asociadas con STGD1 en varios grupos raciales y étnicos, especialmente en europeos, afroamericanos y asiáticos (38) y esas mutaciones apenas se encuentran en los estudios limitados en pacientes latinoamericanos con STGD1 que mostraron mutaciones fundadoras adicionales; por lo que nuestro estudio aporta datos relevantes a la literatura nacional e internacional en cuestiones de relación clínica y genética de enfermedad de Stargardt.

## 12. Conclusiones

Las distrofias maculares son la causa principal de discapacidad visual que conduce a la ceguera irreversible en el mundo desarrollado; poseen una gran variabilidad fenotípica y se definen como un proceso de envejecimiento y muerte prematura de las células de la retina, generalmente confinado a la mácula, en la cual hay un defecto enzimático heredable, pero no existe evidencia de un factor etiológico extrínseco demostrable (34).

A la fecha, se han reportado más de 800 mutaciones distintas en el gen ABCA4, entre ellas la enfermedad de Stargardt y el fundus flavimaculatus. A nivel histopatológico se produce un cúmulo de material tipo lipofuscina en las células del epitelio pigmentario de la retina, por la mutación de este gen.

Este estudio describió las características genéticas y fenotípicas de STGD1 en una cohorte mexicana de pacientes jóvenes, ya que la mediana de edad fue de 24 años, algo menor que lo publicado en la literatura internacional. La mayoría de los pacientes fueron de género femenino.

Curiosamente, hubo diferencias y similitudes fenotípicas en los pacientes de esta cohorte que albergaban mutaciones ya descritas en la literatura en comparación con otras cohortes. Estos hallazgos, junto con la concordancia con variantes observadas en otras poblaciones, refuerzan la necesidad de estudios de genotipo-fenotipo en grandes cohortes y poblaciones diversas.

### 13. Referencias

- 1.- Rivera A, White K, Stöhr H, Steiner K, Hemmrich N, Grimm T, et al. A comprehensive survey of sequence variation in the ABCA4 (ABCR) gene in Stargardt disease and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(4):800-13.
- 2.- Michaelides M, Hunt M, Moore AT. The genetics of inherited macular dystrophies. *J Med Genet.* 2003; 40(9): 641-650.
- 3.- Hamel CP. Cone rod dystrophies. *Orphanet J Rare Dis.* 2007; 2:7.
- 4.- Voo I, Small KW. Update on the genetics of macular dystrophies. *Retina.* 2004; 24(4):591-601.
- 5.- Allikmets R, Singh N, Sun H, Shroyer NF, Hutchinson A, Chidambaram A, et al. A photoreceptor cell- specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy. *Nat Genet.* 1997; 15(3): 236-46.
- 6.- Hargitai J, Zernant J, Somfai GM, Vamos R, Farkas A, Salacz G, et al. Correlation of clinical and genetic findings in Hungarian patients with Stargardt disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46(12):4402-8.
- 7.- Simonelli F, Testa F, Zernant J, Nesti A, Rossi S, Allikmets R, et al. Genotype-phenotype correlation in Italian families with Stargardt disease. *Ophthalmic Res.* 2005; 37(3):159-67.
- 8.- Blodi FC. The pathology of central tapeto-retinal dystrophy (hereditary macular degenerations). *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1966; 70(6):1047-53.
- 9.- Bonin P, Passot M, Triolaire-Colton M-Th. Le signe du silence choroidien dans les degenerescences tapetoretiniennes posterieures. In: De Laey JJ, (ed.) *International Symposium on Fluorescein Angiography. Doc Ophthalmol Proc Ser.* 1976; 9: 461-3.
- 10.- Wing GL, Blanchard GC, Weiter JJ. The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1978; 17(7):601-7.
- 11.- Feeney-Burns L, Eldred GE. The fate of the phagosome: conversion to 'age pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 1983; 103 (Pt 4):416-21.

- 12.- Anderson KL, Baird L, Lewis RA, Chinault AC, Otterud B, Leppert M, et al. A YAC contig encompassing the recessive Stargardt disease gene (STGD) on chromosome 1p. *Am J Hum Genet.* 1995; 57(6):1351-63.
- 13.- Broccardo C, Luciani M, Chimini G. The ABCA subclass of mammalian transporters. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1461(2):395-404.
- 14.- Strachan T, Read A. *Human molecular genetics.* Edit. Garland Science. 4a edición. New York, USA. Pág 276.
- 15.- Asper ophthalmologics. ABCR gene. [www.asperophthalmologics.com](http://www.asperophthalmologics.com). Jan. 2009.
- 16.- Nasonkin I, Illing M, Koehler MR, Schmid M, Molday RS, Weber BH. Mapping of the rod photoreceptor ABC transporter (ABCR) to 1p21-p22.1 and identification of novel mutations in Stargardt's disease. *Hum Genet.* 1998; 102(1):21-6.
- 17.- Schindler EI, Nylén EL, Ko AC, Affatigato LM, Heggen AC, Wang K, et al. Deducing the pathogenic contribution of recessive ABCA4 alleles in an outbred population. *Hum Mol Genet.* 2010; 19(19):3693-701.
- 18.- Ergun E, Hermann B, Wirtitsch M, Unterhuber A, Ko TH, Sattmann H, et al. Assessment of central visual function in Stargardt's disease/fundus flavimaculatus with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46(1):310-6.
- 19.- Wabbels B, Demmler A, Paunescu K, Wegscheider E, Preising MN, Lorenz B. Fundus autofluorescence in children and teenagers with hereditary retinal diseases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006; 244(1):36-45.
- 20.- Oh KT, Weleber RG, Stone EM, Oh DM, Rosenow J, Billingslea AM. Electroretinographic findings in patients with Stargardt disease and fundus flavimaculatus. *Retina.* 2004; 24(6):920-8.
- 21.- Molina-Martín A, Pérez-Cambrodí RJ, Piñero DP. Current Clinical Application of Microperimetry: A Review. *Semin Ophthalmol.* 2018; 33(5):620-628.
- 22.- Bagdonaite-Bejarano L, Hansen RM, Fulton AB. Microperimetry in Three Inherited Retinal Disorders. *Semin Ophthalmol.* 2019; 34(4):334-339.
- 23.- Zahid S, Jayasundera T, Rhoades W, Branham K, Khan N, Niziol LM, et al. Clinical phenotypes and prognostic full-field electroretinographic findings in Stargardt disease. *Am J Ophthalmol.* 2013; 155(3):465-473.e3.
- 24.- Testa F, Melillo P, Di Iorio V. Macular function and morphologic features in juvenile stargardt disease: Longitudinal study. *Ophthalmology.* 2014; 121(12):2399-2405.

- 25.- Radu RA, Mata NL, Nusinowitz S, Liu X, Sieving PA, Travis GH. Treatment with isotretinoin inhibits lipofuscin accumulation in a mouse model of recessive Stargardt's macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(8):4742-7.
- 26.- Radu RA, Han Y, Bui TV, Nusinowitz S, Bok D, Lichter J, et al. Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: a potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005; 46(12):4393-401.
- 27.- Das K, Gopalakrishnan S, Dalan D, Velu S, Ratra V, Ratra D. Factors influencing the choice of low-vision devices for visual rehabilitation in Stargardt disease. *Clin Exp Optom*. 2019; 102(4):426-33.
- 28.- Bier C. Visuelle Rehabilitation bei Patienten mit hereditärer Netzhautdystrophie: aktuelle Daten einer Sehbehindertenambulanz. *Klinische Monatsblätter Für Augenheilkunde*. 2009; 226(05), 421-7.
- 29.- Dhungel P. Low Vision Management in a Case of Stargardt's Disease. *Adv Ophthalm Vis Syst*. 2015; 2(1).
- 30.- Chacón-Camacho OF, Granillo-Alvarez M, Ayala-Ramírez R, Zenteno JC. ABCA4 mutational spectrum in Mexican patients with Stargardt disease: Identification of 12 novel mutations and evidence of a founder effect for the common p.A1773V mutation. *Exp Eye Res*. 2013; 109:77-82
- 31.- Chacón-Camacho OF, Zenteno JC. First Report of Molecular Genetic Analysis of Stargardt Disease in Mexican Population. *Invest Ophthalm Vis Sci*. 2012; 53(14):1219.
- 32.- Han Z, Conley SM, Makkia RS, Cooper MJ, Naash MI. DNA nanoparticle-mediated ABCA4 delivery rescues Stargardt dystrophy in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122(9):3221-6.
- 33.- Sambricio J, Suárez-Baraza J. Manifestaciones clínicas en 4 casos con enfermedad de Stargardt. *Rev Mex Oftal*. 2016; 90(2):84-8.
- 34.- Hernández-Pupo A. Enfermedad de Stargardt. Presentación de un caso. *Correo Científico Médico de Holguín*. 2019; 23(2):647-57.
- 35.- Bernal Montesdeoca L, Manrique de Lara A. Clinical spectrum in Stargardt disease. *Arch Soc Canar Oftal*. 2017; 28: 67-71.
- 36.- Schulz HL, Grassmann F, Kellner U, Spital G, Rütger K, Jägle H, et al. Mutation Spectrum of the ABCA4 Gene in 335 Stargardt Disease Patients From a Multicenter German Cohort-Impact of Selected Deep Intronic Variants and Common SNPs. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017; 58(1):394-403.



37.- Fujinami K, Strauss RW, Chiang JP, Audo IS, Bernstein PS, Birch DG; ProgStar Study Group; ProgStar Study Group. Detailed genetic characteristics of an international large cohort of patients with Stargardt disease: ProgStar study report 8. *Br J Ophthalmol*. 2019; 103(3):390-7.

38.- Mena MD, Moresco AA, Vidal SH, Aguilar-Cortes D, Obregon MG, Fandiño AC, et al. Clinical and Genetic Spectrum of Stargardt Disease in Argentinean Patients. *Front Genet*. 2021; 12:646058.

## 14. Anexos

### 14.1. Consentimiento informado

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR DE UNA INVESTIGACIÓN MÉDICA

##### “Descripción clínica y genética de un grupo de pacientes en población mexicana con enfermedad de Stargardt”

Investigador principal: **Dr. Roger Agustín Fest Parra**

Lugar donde se realizará el estudio: Instituto de oftalmología "Fundación Conde de Valenciana IAP"

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio descriptivo de investigación médica a cargo de los departamentos de retina y vítreo y genética de la presente institución. Antes de decidir si participar o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, del cual se le entregará una copia firmada y fechada.

#### **1. Justificación del estudio.**

El estudio está enfocado a la identificación y conocimiento de la correlación fenotipo-genotipo de la enfermedad de Stargardt, con lo que se podría establecer un diagnóstico temprano que permita ofrecer a los pacientes métodos de rehabilitación oportunos.

#### **2. Objetivo del estudio**

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo realizar una descripción clínica y genética de la enfermedad de Stargardt.

#### **3. Procedimiento del estudio**

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán pruebas genéticas (reacción en cadena de polimerasa, cuyo costo será cubierto por la institución) para determinar la mutación causal específica de su enfermedad a partir de una muestra obtenida de sangre total en una vena periférica. Se realizarán estudios clínicos complementarios que no implican riesgos para su salud, fuera de la posibilidad de presentar una reacción alérgica al compuesto fluoresceína, utilizado durante el estudio denominado angiografía con fluoresceína.

#### **4. Molestias o riesgos asociados con el estudio**

Las derivadas de la obtención de una muestra de sangre periférica y a la inyección de medio de contraste (fluoresceína) a través de una vía periférica durante la realización de la angiografía con fluoresceína.

### **5. Beneficios que puede obtener del estudio**

Los principales beneficios a obtener en este estudio son el diagnóstico molecular preciso y causal de la patología que usted padece, así como la obtención de una batería complementaria de estudios clínicos que ayudan a los investigadores determinar el estado actual de su padecimiento.

En caso de requerir de algún otro tipo de atención se llevará a cabo una referencia médica a un hospital general, individualizando las condiciones de cada paciente y tomando en cuenta si es derechohabiente de alguna institución.

### **6. Aclaraciones**

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria
- En el proceso del estudio usted podrá solicitar información sobre cualquier pregunta y/o aclaración de cualquier duda acerca de los procedimientos riesgos y beneficios. Si requiere ampliar información sobre su participación en el estudio puede comunicarse al Comité de Ética en Investigación, al teléfono 54421700 ext.3212.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo manifestar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad. Sin que esto cree perjuicios para continuar su cuidado y tratamiento.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- El investigador tiene la obligación de proporcionarle la información actualizada sobre los avances del estudio.
- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación a participar en este estudio. Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

### **7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Acuerdo en participar en este estudio de investigación, entiendo que tengo derecho a retirarme de la investigación, sin perder mis derechos como paciente de este hospital.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

También he sido informado (a) que recibiré de forma gratuita el medicamento (s), o estudio (s) que se requieran para la investigación:

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Firma del participante: \_\_\_\_\_ No. telefónico: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

#### Testigo 1

Nombre del testigo: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_ Firma del testigo: \_\_\_\_\_

No. telefónico: \_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

#### Testigo 2

Nombre del testigo: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_ Firma del testigo: \_\_\_\_\_ No. telefónico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Domicilio: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he informado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Nombre del investigador responsable: Dr. Roger Agustín Fest Parra

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ No. telefónico: 55 5442 1700

Domicilio: Chimalpopoca #14, colonia centro, Ciudad de México 06800

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**\* Este Consentimiento Informado ha sido aprobado por unanimidad en el Comité de Ética en Investigación de nuestro Instituto, con fundamento en los Artículos 20, 21, 22 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.**

## 14.1. Aprobación del Comité de Investigación



### **Instituto de Oftalmología** "Fundación de Asistencia Privada Conde de Valenciana IAP"®

Ciudad de México, a 16 de julio del 2021

Dr. Roger Agustín Fest Parra  
Dr. Rodrigo Matsui Serrano  
Dr. Gerardo Ledesma Gil  
Dr. Óscar Francisco Chacón Camacho  
Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz

Departamento de Retina y vítreo

Presente:

Con respecto al protocolo "*Descripción clínica y genética de un grupo de pacientes en población mexicana con enfermedad de Stargard*" (CI-027-2021), me permito informarle que el Comité de Investigación **APROBÓ** su realización en la versión actual.

A fin de cumplir la normatividad de la institución, es necesario que obtenga las cartas de aprobación de los Comités de Ética en Investigación y Bioseguridad. Agradeciendo su valiosa labor en las actividades de investigación de nuestra institución, me reitero a sus órdenes para cualquier aclaración.

Atentamente,

Dra. Aída Jiménez Corona  
Secretaria, Comité de Investigación  
Instituto de Oftalmología  
Fundación de Asistencia Privada  
Conde Valenciana I.A.P.

**COMITÉ DE INVESTIGACIÓN**

No. de registro ante la Cofepris

17 CI 09 015 008



Chimalpopoca 14 Colonia Obrera, Delegación Cuauhtemoc. C.P. 06800. Ciudad de México. Teléfono: 5442 - 1700.  
Web: [www.institutodeoftalmologia.org](http://www.institutodeoftalmologia.org) Correo: [buzon@elconde.org](mailto:buzon@elconde.org)