

DIR. INVES-043-2025
Guatemala, 19 de febrero de 2025

Ref. IF-2025

Doctora
Alice Patricia Burgos Paniagua
Dirección General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente



Respetable Doctora Burgos:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para informar que revisé y aprobé el informe final del proyecto de investigación titulado: ***"Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos "Dr. Rodolfo Robles V."*** Con número de partida presupuestal: 4.8.63.5.88, Coordinado por la MSc. Débora Adalgiza Méndez.

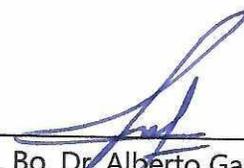
Sin otro particular, suscribo de usted, atentamente.



"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Dr. César Oswaldo García García
Director de Investigación
Facultad de Ciencias Médicas



F. 

Vo. Bo. Dr. Alberto García González
Decano en funciones
Facultad de Ciencias Médicas

Adjunto: Lo indicado
CC. Archivo
COGG/mcp

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

nombre del programa universitario de investigación de la Digi

Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

nombre del proyecto de investigación

4.8.63.5.88

número de partida presupuestaria

Dirección de Investigación, Facultad de Ciencias Médicas

unidad académica o centro no adscrito a unidad académica que avaló el proyecto

MSc. Débora Adalgiza Méndez. Coordinadora

MSc. Miriam Oliva. Investigadora

Lic. Juan Carlos Barrios Menéndez. Investigador

Br. Ana Marcela Alvarez Salas. Auxiliar de Investigación II

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por la Digi

Guatemala, 19 de febrero de 2025



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Autoridades de la Dirección General de Investigación

Dra. Alice Burgos Paniagua

Directora General de Investigación

M.A. Sucelly Orozco de Morales.

Coordinadora del Programa Universitario de Investigación

Autores

Investigadores

MSc. Débora Adalgiza Méndez, Coordinadora del proyecto, Registro de Personal No. 940329. **Coordinadora del proyecto**

MSc. Magda Francisca Velásquez Tohom, investigadora, No. Registro de Personal No.14937. **Investigadora**

MSc. Miriam Oliva, investigadora, Registro de Personal No. 20240673. **Investigadora**

MSc. Juan Carlos Barrios Menéndez, Registro de Personal No. 20200482. **Investigador**

Marcela Álvarez, No. Registro de Personal 20240672. **Auxiliar de investigación II**

Colaboradores:

MSc. Federico Hermes Beltranena, Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

MSc. Katherine Sabina Valdez, Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

MSc. Lilian Isabel Cayax Menchú. Registro de personal No. 20010351

El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria número: 4.8.63.5.88 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Índice general

RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN:.....	9
3. REVISIÓN DE LITERATURA	10
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	16
5. OBJETIVOS.....	18
5.1 OBJETIVO GENERAL:	18
6. HIPÓTESIS: NO APLICA.....	19
7. MÉTODO:	19
8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
9 PROPIEDAD INTELECTUAL:	45
10 BENEFICIARIOS DIRECTOS E INDIRECTOS	45
11 ESTRATEGIA DE DIVULGACIÓN Y DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	46
12 CONTRIBUCIÓN A LAS PRIORIDADES NACIONALES DE DESARROLLO (PND)	48
13 CONTRIBUCIÓN AL DESARROLLO DE INICIATIVAS DE LEY	48
14 VINCULACIÓN	48
15 CONCLUSIONES:	49
16 RECOMENDACIONES	50



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Índice de Tablas de presentación de resultados

Tabla 1. *Descripción general de los participantes.*

Tabla 2. *Mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con glaucoma congénito Primario*

Tabla 3. *Similitudes en las mutaciones del gen CYP1B1 descritas para el diagnóstico de GCP**

Tabla 4. *Fenotipo de las variantes del gen CYP1B1 en pacientes con GCP**

Tabla 5. *Riesgo de presentar GCP* en pacientes con presencia de variantes en el gen CYP1B1*

Tabla 6. *Antecedentes familiares de glaucoma en 20 de los pacientes*



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Resumen

El glaucoma congénito primario es una patología ocular de carácter hereditario que se presenta desde el nacimiento; sin diagnóstico oportuno, terapéutica médica y quirúrgica temprana puede conllevar a la ceguera y a la discapacidad permanente para quien la padece. Se estima su incidencia en 1 de cada 10,000 nacidos vivos, con un patrón de herencia usualmente autosómico recesivo. Se ha ligado al gen CYP1B1 como factor genético causante principalmente asociado a la enfermedad; se han secuenciado varias cohortes de pacientes con glaucoma congénito primario en busca de variantes del mismo, determinándose que dichas mutaciones varían en los diferentes grupos étnicos, contando con pocos datos de poblaciones latinoamericanas y ninguna de Guatemala.

Con el objetivo de Caracterizar las mutaciones del gen CYP1B1 en pacientes con glaucoma congénito primario, se utilizó un diseño descriptivo cuantitativo. Se seleccionaron 60 pacientes adultos que voluntariamente aceptaron participar, 28 con diagnóstico confirmado de glaucoma congénito primario que asisten a control y 32 sin glaucoma que por primera vez buscaron atención oftalmológica. A todos se les entrevistó y posteriormente extrajo muestra sanguínea para luego realizar la secuenciación Sanger y determinar la presencia de mutaciones del gen CYP1B1. Los resultados mostraron 19 mutaciones del gen CYP1B de las que 4 variantes ya se encontraban en la base internacional de referencia. No hubo resultados de mutación en el grupo de pacientes sin glaucoma. Este estudio constituye el primer análisis genético de glaucoma congénito primario en Guatemala y sienta las bases para estudios posteriores a mayor escala en nuestro país.

Palabras clave

1. Glaucoma	2. Mutaciones	3. Gen CPY1B1	4. Ceguera
-------------	---------------	---------------	------------



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Abstract

Primary congenital glaucoma is an inherited ocular disease at birth onset. Without timely diagnosis, and early medical and surgical treatment, it can lead to blindness and permanent disability for those affected. It has an estimated incidence of 1 in every 10,000 live births, usually with an autosomal recessive inheritance pattern. The CYP1B1 gene has been reported as primary congenital glaucoma causing gene. Several cohorts of patients with primary congenital glaucoma have been sequenced to search for gene variants, and it has been determined that these mutations vary across different ethnic groups, with limited data available from Latin American populations and none from Guatemala.

To characterize the mutations of the CYP1B1 gene in patients with primary congenital glaucoma, a descriptive quantitative design was used. Sixty adult patients who voluntarily agreed to participate were selected, 28 of whom had a confirmed diagnosis of primary congenital glaucoma and were attending follow-up appointments, while 32 did not have glaucoma and sought ophthalmologic care for the first time. All participants were interviewed, and blood samples were collected for Sanger sequencing to determine the presence of CYP1B1 gene mutations. The results revealed 19 mutations of the CYP1B1 gene, of which 4 variants were already present in the international reference database. No mutations were found in the group of patients without glaucoma. This study constitutes the first genetic analysis of primary congenital glaucoma in Guatemala and lays the foundation for larger-scale studies in our country.

Keywords

1. Glaucoma	2. Mutations	3. CPY1B1 Gen	4. Blindness
-------------	--------------	---------------	--------------



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

1. Introducción

El Glaucoma congénito es una forma severa de la enfermedad, que se presenta tempranamente, en el período neonatal o bien antes de los 3 años de edad; se asocia a anomalías del desarrollo del segmento anterior y el principal hallazgo corresponde a desarrollo anómalo de la malla trabecular, con consecuente limitación en el drenaje del humor acuoso (Chan et al., 2015). Lo anterior se traduce en la elevación de la presión intraocular con el consecuente deterioro del nervio óptico, el cual es progresivo y conlleva a ceguera en un alto porcentaje de pacientes (Malik et al., 2017). Esta patología tiene una herencia autosómica recesiva y afecta a alrededor de 1 de cada 10,000 recién nacidos siendo más frecuente en ciertas etnias, como la afroamericana y la gitana (Moore, Tomkins & Ben-Zion, 2013).

El diagnóstico temprano de la enfermedad cobra vital importancia para un abordaje inmediato, con la finalidad de preservar la visión de los pacientes detectados y mejorar la calidad de vida de los mismos, toda vez se evite la ceguera (Mandal & Chakrabarti, 2011). Para ello, se han propuesto algunas herramientas que ayuden a detectar tempranamente la enfermedad, entre ellas se encuentra la detección de mutaciones patogénicas (Li et al., 2011). Se han identificado mutaciones en tres genes: el citocromo P450 (CYP1B1), la proteína 2 de unión al factor de crecimiento transformante latente beta (LTBP2) y la tirosina cinasa endotelial (TEK) (Casella et al., 2015). Siendo el mayormente relacionado el gen CYP1B1, en el que se han reportado mutaciones en el 20-76% de los casos de glaucoma congénito, variando entre las diferentes poblaciones (Abu-Omero et al., 2011).

En Guatemala no se cuenta con estudios previos y datos propios sobre las variantes genéticas de nuestra población con diagnóstico de glaucoma congénito. En el Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles Valverde, centro de referencia de pacientes con problemas oculares a nivel nacional, de acuerdo con la estadística de la Clínica de Glaucoma, para el año 2019 el glaucoma congénito representó un 3.48% del total de casos (1,427 pacientes evaluados). Para el año 2022 de 9,536 pacientes, 128 fueron tratados por glaucoma congénito (1.32%). (Estadística 2019-2022 Clínica de Glaucoma, Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles Valverde)



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Debido al impacto económico en la familia guatemalteca, así como el impacto institucional que implica el manejo médico, quirúrgico y de rehabilitación de pacientes con glaucoma congénito, cobra importancia la caracterización del tipo de alelo predominante en nuestro país, así como el uso de herramientas preventivas para esta enfermedad (Faiq et al., 2013). Las mutaciones del gen CYP1B1 constituyen el factor genético más frecuentemente relacionado con el glaucoma congénito primario. En el presente estudio se caracterizaron las mutaciones del gen CYP1B1 en un grupo de la población guatemalteca diagnosticada con glaucoma congénito primario, con la finalidad de brindar herramientas nuevas para el diagnóstico, tratamiento y de ser posible, brindar consejería genética oportuna a nuestros pacientes. Para ello, se analizaron las muestras de ADN de pacientes con glaucoma congénito primario, por medio de secuenciación Sanger de dos exones del gen CYP1B1 y se compararon con las de individuos sin glaucoma congénito primario. Este constituye el primer estudio sobre las características genéticas de nuestra población, las variantes presentes, la frecuencia de estas variantes, las variantes nuevas y reportadas. Además, se recopilaron datos clínicos y demográficos de los pacientes para determinar posibles factores asociados con la enfermedad; encontrándose la presencia de 11 variantes nuevas no reportadas en la literatura; de las cuales 8 son clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas lo cual tiene relevancia clínica.

Se espera que los resultados de esta investigación contribuyan a mejorar la comprensión de la patogénesis del glaucoma congénito en la población guatemalteca y permitan diagnóstico y abordaje temprano, así como la identificación de posibles dianas terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad, Además, esta investigación podría tener implicaciones importantes en la prevención del glaucoma congénito mediante la consejería genética.

Finalmente, el estudio que se presenta puede servir como precedente para realizar estudios a mayor escala que involucren otros centros oftalmológicos del país para profundizar en el conocimiento de dichas variantes en nuestra población.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

2. Contexto de la investigación:

Delimitación Temporal:

El estudio que se presenta fue realizado en el período comprendido de febrero a noviembre del año 2024, en pacientes adultos con diagnóstico de glaucoma congénito primario del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

Delimitación Espacial:

Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” que es un centro de referencia para la consulta oftalmológica, por lo que el personal y sus instalaciones están preparados para el buen acceso de los pacientes con dificultades o discapacidad visual, esto permitió que no fuese necesaria ninguna inversión ni preparación particular para la realización de esta investigación; contando con la participación de médicos oftalmólogos subespecialistas en glaucoma.

Los análisis moleculares y bioinformáticos se realizaron en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biomédicas, de la Facultad de Ciencias Médicas en el Centro Universitario Metropolitano, zona 11.

La población meta estuvo constituida por 28 pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito primario, de un total de 128 identificados y tratados en el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” en la actualidad. La cantidad de pacientes a incluir en el estudio fue determinada por aspectos de presupuesto para la realización del procesamiento de las muestras, así como por la dificultad que existe en la captación de los pacientes con esta enfermedad, ya que muchos de ellos provienen del interior del país, con dificultades para movilizarse hacia la ciudad capital.

Dado que es innegable la utilidad que revisten los estudios genéticos en la detección temprana de la enfermedad; se espera que con los datos obtenidos en el presente estudio se inicie la difusión y concientización tanto de los pacientes identificados como de los familiares en línea directa que pudiesen presentar las mutaciones identificadas, brindándoles consejería genética con la finalidad de disminuir la incidencia de la enfermedad.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

3. Revisión de literatura

1.1 *Glaucoma*

Cuando se habla de Glaucoma se hace referencia a un grupo de enfermedades que se caracterizan por presentar una neuropatía óptica, crónica y progresiva que fue descrita en sus inicios asociada a incremento de la presión intraocular y que, de hecho, constituye el único factor que puede controlarse para frenar el daño a la cabeza del nervio óptico, aunque a través del tiempo se ha determinado que no es el único desencadenante del daño glaucomatoso. En el glaucoma acontecen cambios en la dinámica del humor acuoso, tanto en la tasa de producción del mismo, así como en su flujo de salida; factores que se consideran responsables del incremento de la presión intraocular, el cual a su vez causa la disminución del flujo axoplásmico con la consecuente pérdida de células ganglionares de la retina. Funcionalmente el daño glaucomatoso se traduce en alteraciones del campo visual y en sus etapas avanzadas disminución severa de la agudeza visual hasta llegar a la ceguera en su etapa terminal. En relación con la fisiopatología del glaucoma, existen múltiples teorías que incluyen alteraciones vasculares, gliales, de lámina cribosa; sin embargo, se ha atribuido a la pérdida axonal como la responsable del aumento en la excavación de la cabeza del nervio óptico. La muerte celular programada o apoptosis ha sido descrita como un mecanismo asociado a la pérdida de células ganglionares, lo cual ha quedado en evidencia a través de estudios de microscopía especular (Allingham et al., 2020).

Para hacer diagnóstico de glaucoma, usualmente se toman en cuenta factores como la presión intraocular, cambios atróficos de la cabeza del nervio óptico, pérdida de células ganglionares de la retina y daño característico asociado de campos visuales. El glaucoma puede clasificarse de varias formas; una de ellas hace referencia a la causa básica desencadenante, dividiéndolo entonces en primario y secundario. Pueden también clasificarse con base en la edad de presentación en la cual encontramos al



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

glaucoma congénito primario, glaucomas infantiles, juveniles y del adulto (Rojas Juárez & Saucedo Castillo, 2014).

La importancia de esta enfermedad radica en el hecho de que, siendo crónica y progresiva, incide grandemente en la calidad de vida de los pacientes que la padecen, puesto que la progresión de la misma conlleva a deterioro de la visión hasta llegar a la ceguera; siendo por tanto de suma importancia su detección temprana con la finalidad de incidir en los factores que se han identificado como sujetos de modificarse, tales como la presión intraocular. En la actualidad existen diversos tratamientos farmacológicos y quirúrgicos que se utilizan de acuerdo con el tipo y estadio en el cual detectamos la enfermedad, todos ellos con el objetivo de disminuir la presión intraocular y frenar la progresión de la enfermedad (Ophthalmol, 2004).

1.2 *Glaucoma Congénito Primario*

El glaucoma congénito primario se caracteriza por ser una enfermedad hereditaria de presentación temprana (generalmente en el período neonatal); presentando alteraciones en el desarrollo del ángulo camerular, mencionando predominantemente cambios en la malla trabecular con la subsecuente obstrucción del flujo de salida del humor acuoso. Lo anterior se traduce en el incremento de la presión intraocular deteriorando progresivamente la cabeza del nervio óptico como sucede en otros tipos de glaucoma. Se menciona su bilateralidad hasta en un 70% de pacientes, aunque como en otros tipos de glaucoma la progresión suele ser asimétrica (Allingham et al., 2020).

Según el World Glaucoma Council, de acuerdo a la edad de presentación podemos clasificar el glaucoma congénito primario como neonatal (0-1 mes), Infantil (1-24 meses) y tardío (>24 meses). El diagnóstico de la enfermedad se hace generalmente durante el primer año de vida y más frecuentemente los padres de los pacientes consultan durante los primeros 3 meses de vida derivado de los síntomas de presentación. Generalmente la tríada clásica de síntomas incluye: fotofobia, blefaroespasma y epífora; sintomatología que se explica por el edema corneal secundario al incremento de la presión intraocular, ello hace que el paciente tenga poca



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

tolerancia a los estímulos luminosos, con cierre palpebral intermitente y lagrimeo secundario. Se caracteriza además por distensión de los tejidos oculares lo cual se traduce en lo que conocemos como Buftalmos (ojo de buey) (Allingham et al., 2020).

Según Childhood Glaucoma Research Network, para hacer el diagnóstico de glaucoma congénito primario se deben encontrar de 2 o más de los siguientes criterios: presión intraocular > 21 mm Hg, incremento en el diámetro corneal ($>$ a 11 mm al nacimiento, >12 mm en menores de 1 año de edad), asociado a alteraciones corneales como edema y estrías de Haab, miopía progresiva por incremento de longitud axial, acoplamiento del nervio óptico, asimetría >0.2 entre ambos nervios y defecto campimétrico glaucomatoso (Weinreb R.N. et al 2013).

El glaucoma congénito primario se agrupa dentro de los tipos de glaucoma de herencia mendeliana, de carácter autosómico recesivo y penetrancia variable, identificando 3 loci relacionados con la enfermedad: GLC3A, GLC3B y GLC3C siendo este último el principalmente asociado a la misma. El Gen CYP1B1 se localiza en el locus GLC3A y se menciona que dicho gen es el factor genético principalmente asociado al glaucoma congénito primario. (Marchini, Morales & Fernández, 2017).

1.3 *Genes candidatos del glaucoma congénito:*

Para el glaucoma se han descrito diferentes patrones de herencia dependiendo del tipo en cuestión. Se menciona que hay aproximadamente 30 loci relacionados a la enfermedad, 3 de los cuales se asocian con el glaucoma congénito primario; estos incluyen el GLC3A, GLC3B y el GLC3C. El glaucoma congénito presenta una herencia autosómica recesiva de penetrancia incompleta (López Garrido et al., 2013). En el locus GLC3A del cromosoma 2p22-p21 se localiza el gen CYP1B1 (Allingham et al., 2020) cuyas mutaciones se consideran las principalmente asociadas a la



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

enfermedad, con 27% en casos esporádicos hasta un 87% en casos familiares a nivel mundial (Bushra Rauf et al., 2019) aunque también se han encontrado mutaciones del mismo en pacientes con glaucoma juvenil y crónico simple de ángulo abierto, así como en otros tipos de glaucomas infantiles. Para el Locus GLC3B se han identificado mutaciones en el gen LTBP2, no habiendo sido identificado gen para el GLC3C. Otros genes descritos incluyen el MYOC y el gen FOXC1 aunque se han relacionado predominantemente al glaucoma crónico de ángulo abierto (Morales Fernández, 2017).

1.4 *Citocromo CYP1B1 y su relación con el Glaucoma Congénito Primario*

El CYP1B1 forma parte de los citocromos P450, los cuales son hemoproteínas que forman una superfamilia de aproximadamente 100 isozimas con características genéticas diferentes. Estas son nombradas de la siguiente manera: todos los citocromos se nombran “CYP”, se asigna un número de acuerdo con la familia, la letra mayúscula designa la superfamilia. Se menciona que 58 de las enzimas del citocromo P450 se han encontrado en el genoma humano. Su localización tisular principalmente es en retículo endoplásmico a nivel hepático e intestinal, aunque también pueden encontrarse a nivel mitocondrial en diferentes tejidos. La función principal que se atribuye a la superfamilia citocromo P450 está relacionada con el metabolismo de xenobióticos a través de reacciones de hidroxilación principalmente, aunque se mencionan reacciones de otro tipo tales como desulfuración, peroxigenación, desaminación, etc. (Matheus Cristopher, et al., 2004).

The *MYOC* gene (OMIM 601652) has been associated with juvenile and adult forms of open- angle

El gen del CYP1B1 (Citocromo P450 Familia 1, subfamilia B, polipéptido 1) está compuesto de 3 exones y 2 intrones, localizado en el Locus 2p22.2 y ha sido relacionado como factor genético principal en el glaucoma congénito primario. La expresión del CYP1B1 se ha encontrado en múltiples tejidos. En el ojo, se ha encontrado en retina, córnea, malla trabecular, cuerpo ciliar e iris; estas últimas estructuras implicadas directamente en la producción y drenaje del humor acuoso.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

También se ha mencionado que participa en el desarrollo de la malla trabecular y se ha encontrado su expresión en tejidos embrionarios de diferentes especies durante el desarrollo de los tejidos oculares. (Chen Ling et al., 2020).

El CYP1B1 participa en la fase I del metabolismo, su actividad incluye la activación de algunos sustratos endógenos y se menciona que actúa también como mecanismo de detoxificación de xenobióticos con función monooxigenasa sobre varios sustratos. Se menciona al CYP1B1 dentro de los genes respondedores a dioxina, los cuales tienen un papel regulador en síntesis y degradación de la matriz extracelular de la malla trabecular, tejido cuyas anomalías han sido mencionadas como principal hallazgo en el glaucoma congénito primario. (Morales Fernández, 2017)

Han sido descritas en diferentes poblaciones múltiples mutaciones del CYP1B1 que incluyen deleciones, sustituciones o inserción de nucleótidos que redundan en una proteína no funcional en ocasiones por terminación prematura de la traducción, o bien por cambios de aminoácidos. (Morales Fernández, 2017). Se menciona que el Citocromo P450 se encarga que la oxidación de compuestos como los retinoides. El CYP1B1 actúa sobre sustratos como el retinol. La proteína codificada por CYP1B1 está involucrada en el metabolismo de los esteroides y otros compuestos. Se cree que las mutaciones en este gen pueden causar una disminución en la actividad de la enzima, alterando los niveles de ácido retinoico el cual es de suma importancia para el desarrollo ocular (Allingham et al., 2020). Se ha observado la acumulación de compuestos tóxicos en el tejido ocular, especialmente en la malla trabecular, que es responsable del drenaje del humor acuoso. Por último, se describe que en ratones de experimentación se ha encontrado disminución del colágeno en la malla trabecular con subsiguiente atrofia de la misma. (Faiq et al., 2015).

1.5 *Glaucoma congénito primario y su relación con la ceguera y discapacidad*

El glaucoma congénito primario constituye el tipo más común de los glaucomas congénitos y debido al compromiso visual que generalmente implica, afecta directamente el desarrollo social y emocional del niño y su familia. Se menciona que



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

representa del 2-15% de ceguera a nivel institucional (Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles V.)

Dada la distensibilidad de los tejidos en los infantes, los cambios suelen ser más acelerados y provocan por tanto distensión del globo generalmente en forma asimétrica (bftalmos) y edema corneal difuso provocando disminución importante de la agudeza visual, tanto por errores refractivos importantes como por la opacidad de medios resultante del edema corneal secundario al incremento de la presión intraocular. Los padres de los pacientes generalmente consultan al oftalmólogo por los cambios oculares visibles antes descritos; sin embargo, en un alto porcentaje de pacientes, cuando los cambios secundarios a la distensión de tejidos ya se han presentado, se ha producido también una disminución considerable de la visión que, dependiendo del estadio de diagnóstico e inicio del tratamiento (usualmente quirúrgico), redundará en discapacidad visual permanente. El abordaje temprano es entonces de vital importancia, ya que se ha descrito que el control de la presión intraocular tempranamente permite, en la población infantil la regresión del daño glaucomatoso a nivel del nervio óptico (Weinreb et al., 2013).

En tanto el abordaje terapéutico se de en forma tardía, la discapacidad visual resultante incide directamente en la calidad de vida de los pacientes tanto en etapa infantil como en la edad adulta. pues dificulta al paciente su inserción social y laboral con el deterioro subsecuente de su capacidad financiera y frecuentemente lo obliga además a requerir su ingreso a programas de rehabilitación, lo que incrementa también los costos a nivel institucional pues se requiere atención médica periódica en forma indefinida para el control de la enfermedad y para promover su inserción a la sociedad (Comité Prociegos y Sordos de Guatemala).

Estado del arte

En los últimos años se han publicado algunos artículos acerca de la relación entre el gen CYP1B1 y el glaucoma congénito primario. Algunos estudios se han dedicado a estudiar los exomas de pacientes diagnosticados con glaucoma congénito, en busca de nuevas



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

variantes y para establecer una relación entre las variantes en este gen y el desarrollo de la enfermedad (Carstens et al., 2023).

En años anteriores se han publicado artículos de investigaciones del gen CYP1B1 en glaucoma congénito primario en poblaciones árabes, iraquíes, españolas y estadounidenses, todas ellas en busca de mutaciones del gen antes mencionado con hallazgos de nuevas mutaciones propias de las poblaciones estudiadas. (Shah, M. et al., 2022).

Así mismo, se observan revisiones bibliográficas que recopilan toda la información genética de la enfermedad publicada hasta la actualidad. También escriben acerca de la importancia de los descubrimientos genéticos que permitan explicar la enfermedad y su relación con brindar una correcta consejería genética para las familias con antecedentes de la enfermedad (Duvesh et al., 2022; Leysen et al., 2022). Por último, podemos encontrar un estudio que realizó ensayos in silico para todas las variantes reportadas en el gen CYP1B1. Esto con la finalidad de conocer la manera en la que las proteínas cambian a consecuencia de cada variante. Midiendo la estabilidad de la proteína y la manera en la que interactúa con sus sustratos (Shahid et al., 2022).

4. Planteamiento del problema:

El glaucoma congénito primario es una enfermedad hereditaria y progresiva debida a la disminución en el drenaje del humor acuoso por alteraciones estructurales del ángulo iridocorneal; con el subsecuente aumento de la presión intraocular. Lo anterior repercute dañando al nervio óptico con la subsecuente pérdida de la visión (Ko, Papadopoulos & Khaw, 2015). Uno de los hallazgos genéticos más comunes del glaucoma congénito primario es la mutación en el gen CYP1B1, encontrándose en algunas poblaciones entre el 20-76% de los casos (Ling et al., 2020). Algunas mutaciones del CYP1B1 están relacionadas con cambios en los tejidos oculares responsables de la producción y drenaje del humor acuoso. Sin embargo, las



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

caracterizaciones de variantes para este gen han sido reportadas mayormente en países asiáticos (Haddad et al., 2021; Ou et al., 2018).

Los estudios realizados en América Latina son muy escasos (únicamente en Brasil) y en el caso de Guatemala, aún no se conocen las variantes presentes en su población ni sus proporciones (Coelho et al., 2019). Conocer las características genéticas de los pacientes con glaucoma congénito primario en nuestra población, será de utilidad ya que es una enfermedad que se manifiesta clínicamente desde el período neonatal, siendo de suma importancia su diagnóstico temprano, lo que permitiría el abordaje quirúrgico en etapas iniciales de la enfermedad con la finalidad de preservar la visión y frenar la progresión del daño glaucomatoso (Badawi et al., 2019). La presencia de mutaciones específicas en el gen CYP1B1 puede estar asociada con una mayor probabilidad de desarrollar y transmitir la enfermedad (Shah, Bouhenni & Benmerzouga, 2022); lo cual es de gran utilidad para la consejería genética ya que si se identifican mutaciones en el paciente, se puede ofrecer asesoramiento genético a los miembros de la familia para identificar miembros en riesgo de desarrollar la enfermedad, así como identificar aquellos que sean portadores de la misma a través de la realización de pruebas genéticas al momento del nacimiento de cada nuevo integrante de la misma (Rauf et al., 2016).

Siendo el glaucoma congénito primario una enfermedad autosómica recesiva de penetrancia incompleta, no se manifestará en la totalidad de la descendencia de una persona con la mutación del gen CYP1B1 presente, por lo que es importante que el paciente esté informado de su existencia con la finalidad de la consulta oftalmológica temprana de su descendencia, para que se realice un diagnóstico y abordaje temprano de la enfermedad, permitiendo reducir el impacto que representa la pérdida visual tanto para el paciente como para la familia y mejorando de esta forma su calidad de vida al disminuir la carga emocional y financiera asociada con la enfermedad (Alsaif et al., 2019), además de incidir en la prevención y/o disminución de los casos de discapacidad visual que la enfermedad conlleva si no es tratada oportunamente.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Preguntas de Investigación:

¿Cuáles son las mutaciones del gen CYP1B1 encontradas en los pacientes diagnosticados con glaucoma congénito?

¿Qué variantes del gen CYP1B1 son más frecuentes en pacientes diagnosticados con glaucoma congénito en el Hospital Rodolfo Robles Valverde?

¿Cuál es el fenotipo generado por las variantes del gen CYP1B1 encontradas en pacientes con glaucoma congénito en Guatemala?

¿Qué variantes del gen CYP1B1 representan un mayor riesgo para el desarrollo de glaucoma congénito en la población guatemalteca?

¿Cuáles son los antecedentes familiares de Glaucoma congénito en los pacientes estudiados?

5. Objetivos

5.1 Objetivo General:

Caracterizar las mutaciones del gen CYP1B1 en pacientes con glaucoma congénito del Hospital Rodolfo Robles Valverde.

5.2 Objetivos Específicos:

5.2.1 Conocer las frecuencias de las mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito en el Hospital Rodolfo Robles Valverde.

5.2.2 Identificar las similitudes y diferencias en las mutaciones del gen CYP1B1 asociadas al diagnóstico de glaucoma congénito, con las descritas anteriormente para poblaciones extranjeras.

5.2.3 Determinar el fenotipo de las variantes del gen CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito en Guatemala.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- 5.2.4 Establecer si las variantes encontradas en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito representan un aumento en el riesgo de desarrollar la enfermedad.
- 5.2.5 Describir los antecedentes familiares de Glaucoma congénito en los pacientes adultos del Hospital Rodolfo Robles Valverde.

6. Hipótesis: No aplica

7. Método:

7.1 Tipo de investigación:

Se realizó Investigación Aplicada. Se generó conocimiento en relación a las mutaciones del gen CYP1B1 presentes en pacientes con glaucoma congénito primario en la población guatemalteca; dicho conocimiento se aplicará para informar a pacientes y médicos especialistas tratantes con el propósito de promover la detección temprana en recién nacidos con antecedentes familiares de glaucoma congénito primario, con la finalidad de realizar abordaje temprano que mejore el pronóstico visual en los pacientes detectados.

7.2 Enfoque y alcances de la investigación.

Enfoque de la Investigación: Cuantitativo

Se basó en la identificación de las frecuencias de mutaciones en el gen CYP1B1 en los pacientes adultos con diagnóstico confirmado de Glaucoma Congénito Primario (GCP). Estas frecuencias se contrastaron con las que aparecen en pacientes a quienes se les ha descartado el padecimiento de GCP. También se recolectó información sobre los antecedentes familiares de glaucoma congénito primario.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Alcances de la Investigación: Exploratorio

Los resultados obtenidos se convierten en la primera identificación de mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes adultos guatemaltecos con glaucoma congénito primario. Este es el primer estudio genético que se realiza en el país sobre este tema, sentando un precedente importante dado que los hallazgos encontrados identificaron nuevas variantes del gen CYP1B1, por lo que genera el punto de partida para estudios posteriores a mayor escala, en los cuales puedan involucrarse otras entidades que brindan atención oftalmológica en nuestro país con la finalidad de contar con datos representativos que permitan la toma de acciones encaminadas a la detección y abordaje temprano para evitar la ceguera y discapacidad en los pacientes.

7.3 Diseño de la investigación.

Usando un enfoque cuantitativo, se realizó un diseño descriptivo, transversal

7.4 Población, muestra y muestreo.

Por los elevados costos de la genotipificación, Se decidió un tamaño de muestra de 30 pacientes y un control por cada paciente, seleccionados a conveniencia, de forma secuencial, no probabilística. Se incluyeron 28 pacientes adultos diagnosticados con glaucoma congénito primario y 32 adultos controles correspondientes a pacientes sin ningún tipo de Glaucoma, así como tampoco antecedentes familiares de glaucoma congénito primario.

Los criterios de exclusión para los pacientes con glaucoma congénito primario en esta investigación fueron:

1. Tener parentesco con otros pacientes seleccionados.
2. Pacientes con glaucoma congénito secundario.
3. Pacientes que no asistieron a la cita programada.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Casos y Grupo de referencia:

Inicialmente se estimó la participación de 30 pacientes adultos con diagnóstico de glaucoma congénito primario que, de acuerdo con los archivos de la clínica de glaucoma del HRRV era factible contactar e invitar a participar en el estudio; sin embargo, al momento de contactar a los pacientes se encontró que algunos manifestaron no tener interés en participar y otros dejaron de asistir a los controles clínicos; se intentó su localización por medio del número de teléfono registrado en el expediente clínico, pero varios de ellos habían cambiado número telefónico y no se obtuvo respuesta. El total de pacientes con GCP que cumplieron con las características para participar fue de 28.

Por la naturaleza de la investigación, en la que nos interesaba investigar posibles mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con glaucoma congénito primario, se requirió de un grupo de pacientes sin glaucoma congénito primario, ni otro tipo de glaucoma. Para ello, se conformó un grupo al que llamamos “grupo de referencia o control” pues se hizo necesario contrastar los resultados de la secuenciación genética en personas que no tuvieran la enfermedad.

Se incluyeron 32 pacientes para el grupo de referencia, quienes fueron identificados en la clínica de clasificación del hospital. Se verificó que este grupo de pacientes estuvieran libres de cualquier tipo de glaucoma y ceguera. Además, que no tuvieran antecedentes familiares de glaucoma congénito primario.

Técnicas:

La investigación fue realizada por un equipo multidisciplinario de investigadores que laboran en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en conjunto con médicos oftalmólogos subespecialistas en glaucoma del “Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles V”. Tanto a pacientes con glaucoma congénito primario como a los controles, se les invitó a participar en el estudio y se llenó consentimiento informado respectivamente. El procesamiento de las muestras



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

estuvo a cargo de un profesional especializado en biología molecular y la secuenciación Sanger fue realizada por un laboratorio con amplia experiencia en dicho proceso.

La investigación contó con el aval del Comité de Ética de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Para iniciar el estudio, los pacientes adultos con diagnóstico de glaucoma congénito primario que asisten periódicamente a consultas de seguimiento, las cuales son agendadas por lo médicos glaucomatólogos que brindan atención clínica, fueron localizados en la base de datos de la Clínica de Glaucoma del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V”. Posteriormente, se consultó la agenda de la clínica de glaucoma para determinar las fechas de cita de estos pacientes.

El día de la cita programada, se brindó la atención oftalmológica de rutina por médicos glaucomatólogos de la clínica y al momento de finalizar la consulta programada, los médicos especialistas investigadores, brindaron información sobre la realización de la investigación e invitaron a los pacientes a participar en el estudio; explicándoles que la investigación tenía como objetivo conocer datos propios de nuestra población relacionados con posibilidad de transmitir por herencia el glaucoma congénito primario. Se explicó al paciente y acompañante que la participación era voluntaria y que el negarse a participar en el estudio, no incidiría de ninguna forma en la atención brindada en esa consulta ni en consultas futuras. De acceder a participar en el estudio, el paciente fue invitado a trasladarse al espacio físico designado para dicha actividad, en donde se procedió a llenar el consentimiento informado en el que se incluyó toda la información metodológica y aspectos éticos de la investigación, así como la boleta de recolección de datos.

7.5.1 Consentimiento informado y entrevista.

La mayoría de los pacientes adultos que padecen glaucoma congénito primario y asisten a la consulta del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” son pacientes conocidos por las citas periódicas que se programan para el control de la



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

enfermedad, mayoritariamente se encuentran acompañados de un familiar por la baja visión que presentan, por lo que el espacio para la lectura del consentimiento informado, la recolección de los datos demográficos y la extracción de sangre fue adecuado para brindar un ambiente con capacidad para suficiente para tres personas: el paciente, su acompañante y el investigador o auxiliar de investigación. La entrevista se realizó en un cubículo del área de “clínica de glaucoma” designado para tal fin, con el propósito de que el paciente tuviese privacidad.

Se seleccionaron 28 pacientes adultos diagnosticados con glaucoma congénito primario, los cuales se encuentran en el registro del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”, quienes debían contar con el diagnóstico de un oftalmólogo subespecialista en Glaucoma. Estos pacientes son citados periódicamente a las instalaciones de la Clínica de Glaucoma del Hospital. Al ingresar a la clínica fueron atendidos por el médico glaucomatólogo para informarle detalles sobre la investigación. Al paciente se le describieron los objetivos, metodología, y las implicaciones de los resultados; también se le explicó la necesidad de obtener un consentimiento informado CI (Apéndice 1). Después de que el paciente aceptó y firmó el CI, se realizó entrevista relacionada con su diagnóstico e historia familiar. La entrevista incluyó también, datos demográficos (Apéndice 2). Los 30 pacientes del grupo control, fueron captados en la Clínica de Clasificación y se les invitó a participar en el estudio por medio de la lectura del consentimiento informado, aplicando la misma entrevista que a los casos (Apéndice 2).

El documento del CI y del cuestionario con los datos personales y antecedentes familiares, fueron presentados impresos en papel para que los pacientes, familiares o testigos; y pacientes del grupo control, palpasen los documentos o bien, leyeran el contenido de ambos documentos.

A los pacientes, sus familiares y a los del grupo control, se les entregó una copia del documento del CI.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5.2 Muestra de sangre:

La toma de muestra sanguínea se realizó en el laboratorio clínico del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” extremando las condiciones de bioseguridad y fue realizado por personal técnico de laboratorio de dicha institución. Al acceder a participar en el estudio, el personal de laboratorio clínico del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” previa asepsia y antisepsia procedió a tomar una muestra sanguínea al paciente en un tubo de hematología con EDTA. El investigador y/o el auxiliar de investigación, almacenó este tubo en un congelador ubicado en el Hospital, para luego ser trasladado en un contenedor frío, con paquetes de hielo, al Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB) de la Facultad de Ciencias Médicas. El CIB cuenta con congeladores capaces de llegar a -40° Celsius, temperatura necesaria para conservar el ADN de la muestra. Este congelador se encuentra dentro del laboratorio clínico del CIB, ubicado en el primer piso del edificio D del Centro Universitario Metropolitano. El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigaciones Biomédicas, el cual cuenta con todo el equipo necesario para realizar las pruebas moleculares necesarias para la genotipificación del gen CYP1B1 en estos pacientes.

Para la genotipificación del gen CYP1B1, se procedió a realizar la extracción de ADN por medio de un kit especializado que emplea la metodología de extracción por columna, descrito en la sección de Técnicas e instrumentos. Al tener el ADN extraído, se realizó la cuantificación del ADN por medio del fluorómetro Qubit de Thermo Fisher Scientific. o igual para realizar la amplificación del gen CYP1B1 por medio de PCR. Para el PCR se utilizaron primers descritos en la literatura que permiten amplificar dos exones del gen. Todas las especificaciones de los insumos a utilizar en el PCR están descritas en la sección de técnicas e instrumentos. Seguido al PCR es necesario visualizar si la amplificación fue exitosa, esto se realizó por medio de la visualización de los amplicones en un gel de agarosa y una escalera de peso molecular para confirmar que se amplificaron las regiones correctas. Dado que son dos exones y



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

una región flanqueante, se realizó un PCR para cada región y un gel por cada región también, es decir, se realizaron 3 PCR y 3 geles de agarosa por cada paciente. Al ser visualizadas las 3 regiones amplificadas por cada paciente, los amplicones fueron purificados y secuenciados por medio de la metodología de secuenciación Sanger. La secuenciación Sanger nos permitió conocer las secuencias de las tres regiones del gen CYP1B1. Las secuenciaciones fueron realizadas por la empresa DILAB, un laboratorio de referencia reconocida y que ofrece este servicio en Guatemala. Al ser un total de 60 pacientes y ser 3 regiones del gen, se realizaron un total de 180 PCR, 180 purificaciones y 180 secuenciaciones Sanger.

Al contar con las secuencias de las tres regiones secuenciadas, fue posible compararlas con una secuencia de referencia obtenida del GenBank de la plataforma del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Esta secuencia de referencia es una secuencia del gen CYP1B1 de una persona sana, es decir, produce una proteína totalmente funcional. Esto nos permitió conocer si los pacientes de nuestra investigación contaban con una variante patogénica y determinar qué variante del gen poseían. Con un análisis bioinformático se determinó si las variantes presentes en los pacientes ocasionan un cambio estructural en la proteína, lo que se convierte en patogénicas o posiblemente patogénicas.

Se solicitó a los pacientes con glaucoma congénito primario y a los pacientes sin la enfermedad, la autorización para almacenar las muestras de sangre restantes, con el propósito de identificar mutaciones en otros genes relacionados con el glaucoma congénito primario. Este almacenamiento se mantendrá por no más de 5 años, mientras que se obtenga un nuevo financiamiento que permita continuar con la investigación en el campo de interés. Las muestras debidamente identificadas serán conservadas en los congeladores del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de CCMM, satisfaciendo los requisitos de control de la Dirección de Investigación. Cada uno de los procedimientos para la genotipificación se detallan a continuación.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5.3. Extracción de ADN.

Para la extracción de ADN se utilizó un kit para extracción de ADN genómico que emplea columnas de sílice. Para ello se seleccionó el kit para 200 extracciones de Zymo Research, Quick-DNA Miniprep. Este kit utiliza columnas para tubo colector que captura el ADN y lo purifica. Para ello, se inicia utilizando 400 μ L de buffer de lisis para 100 μ L de sangre periférica. Esto se coloca sobre un vortex durante 5 segundos para mezclar y se deja incubar a temperatura ambiente durante 5-10 minutos. Seguido a esto, se coloca la columna de sílice sobre un tubo colector y se transfiere la mezcla anterior. Esto se centrifuga a $\geq 10,000$ x g por un minuto y se descarta el tubo con el sobrenadante. Luego, se coloca la columna en un nuevo tubo, se agregan 200 μ L de Pre-Wash Buffer y se centrifuga a $\geq 10,000$ x g por un minuto. Se descarta el sobrenadante, se agregan 500 μ L de Wash Buffer, se centrifuga durante un minuto a $\geq 10,000$ x g y se descarta el tubo con el sobrenadante. Por último, se coloca la columna en un tubo de microcentrífuga, se agregan 50 μ L de Buffer de elusión, se deja incubar de 2-5 minutos y se centrifuga durante 30 segundos a $\geq 10,000$ x g. Este eluido contiene el ADN, listo para realizarle PCR.

7.5.4 PCR de dos exones del gen CYP1B1.

Para el PCR de los exones del gen CYP1B1, se amplificaron las regiones codificantes del gen, siendo los exones 2 y 3 (1.6 kb) los mayormente estudiados alrededor del mundo. Ambos se han catalogado como hotspots de mutaciones y todas las variantes patogénicas han sido encontradas en estos dos exones. Para el exón 2 se usarán dos juegos de primers que se traslapan, debido a su longitud, ambos descritos por Panicker y colaboradores (2002), con los primers Forward-TCTCCAGAGAGTCAGCTCCG y Reverse-GGGTCGTCGTGGCTGTAG, generando amplicones de 786 pares de bases. El segundo set de primers que amplifica una sección del exón 2, usa los primers Forward-GATGCGCAACTTCTTCACG y Reverse-CTACTCCGCCTTTTTCAGA, los cuales dan como resultado un amplicón de 648 pares de bases. Para el exón 3 del gen CYP1B1 se usará el protocolo



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

especificado por Abu-Amer y colaboradores (2012), este utiliza los primers Forward-GTCACTGAGCTAGATAGCCT y Reverse-GGACAGTTGATTTATGCTCAC, que generan un amplicón de 844 pares de bases.

7.5.5 Visualización en gel de agarosa.

Los productos de la amplificación fueron visualizados en geles de agarosa al 2%, utilizando una escalera de peso molecular con gradiente de 50 pb. Para ello, el laboratorio de biología molecular del CIB cuenta con una cámara de electroforesis, su fuente de poder y un transiluminador para ver los resultados. El proceso para la visualización de los productos de PCR es el siguiente: primero se coloca buffer TBE dentro de la cámara de electroforesis hasta la marca de llenado. La preparación del gel de agarosa al 2% se realiza utilizando una solución de buffer TBE caliente, GelRed y agarosa en polvo, que al enfriar se convierte en un gel. La cámara de electroforesis disponible cuenta con un peine que genera 10 pozos, haciendo posible correr, el marcador de peso molecular, un control negativo y ocho muestras por corrida, todos con 1 μ L de buffer de electroforesis. Después de 45 minutos conectado a la fuente de poder a 100 voltios, los fragmentos de ADN se desplazarán, haciendo posible observarlos en el transiluminador.

7.5.6 Purificación del producto y secuenciación Sanger.

La purificación y secuenciación de los productos del PCR fueron realizados por el proveedor DILAB de Guatemala, laboratorio de referencia con varios años de trayectoria y quienes ofrecen el servicio de purificación y secuenciación Sanger más económico en el mercado guatemalteco. Los resultados obtenidos fueron las secuencias generadas por el secuenciador en un formato AB1.

Las muestras de sangre de los pacientes y del grupo control, se almacenaron en congelador de -40C en busca de obtener financiamiento para la detección de mutaciones en otro gen descrito por la literatura. Se solicitó a los pacientes la autorización para este almacenamiento.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5 Resumen de las variables o unidades de análisis

Tabla 1. Objetivos, variable, instrumentos y unidad de medida o cualificación utilizada en la investigación.

Objetivo específico	Variable	Instrumentos	Unidad de medida o cualificación
5.1 Caracterizar las mutaciones del gen CYP1B1 en pacientes con glaucoma congénito del Hospital Rodolfo Robles Valverde.	Variantes del gen CYP1B1.	Por medio de secuenciación de Sanger de amplicones del gen CYP1B1 y la comparación con una secuencia de referencia.	Secuenciación de Sanger de amplicones del gen CYP1B1 y la comparación con una secuencia de referencia.
5.2.1 Conocer las frecuencias de las mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito en el Hospital Rodolfo Robles Valverde.	Frecuencia de las variantes del gen CYP1B1	Análisis de frecuencias absolutas y relativas de las variantes del gen CYP1B1	Frecuencias absolutas y relativas de las variantes del gen CYP1B1
5.2.2 Identificar las similitudes y diferencias en las mutaciones del gen CYP1B1 asociadas al diagnóstico de glaucoma congénito, descritas anteriormente para poblaciones extranjeras.	Variantes del CYP1B1 descritas anteriormente y/o nuevas.	bases de datos como ClinVar (NCBI) para determinar si son variantes descritas anteriormente o nuevas.	Contraste de los resultados obtenidos con información existente en bases de datos como ClinVar (NCBI) y literatura para determinar si son variantes descritas anteriormente o nuevas.
5.2.3 Determinar el fenotipo de las variantes del gen CYP1B1 en	Fenotipo generado por las variantes del gen CYP1B1 en pacientes con GC.	Con herramientas bioinformáticas se determinará la manera en la que las	Análisis de datos de mutaciones encontradas usando herramientas



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Objetivo específico	Variable	Instrumentos	Unidad de medida o cualificación
pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito en Guatemala.		variantes cambian la proteína y si es patogénica.	bioinformáticas para determinar la manera en la que las variantes cambian la proteína y si es patogénica. Contraste de información
5.2.4 Establecer si las variantes encontradas en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito representan un aumento en la probabilidad de presentar la enfermedad.	Riesgo que representa cada variante del gen CYP1B1 para el desarrollo de GC.	Una prueba de OR para cada variante, comparando pacientes con GCP con pacientes sin GCP.	Análisis estadístico comparando los datos de mutaciones en ambos grupos
5.2.5 Describir los antecedentes familiares de Glaucoma congénito en los pacientes adultos del Hospital Rodolfo Robles Valverde.	Presencia de glaucoma congénito primario en padres, abuelos y bisabuelos	Entrevista directa de pacientes, se utilizará cuestionario estructurado.	Frecuencias absolutas y relativas de las características de los antecedentes familiares de glaucoma congénito primario

7.6 Procesamiento y análisis de la información.

Se asignó un número de identificación único a cada documento de recolección de información para cada paciente del grupo con glaucoma congénito primario, así como para los pacientes del grupo sin glaucoma. Ese número se colocó en el consentimiento



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

informado, el cuestionario sobre los datos personales y antecedentes familiares, en la muestra de sangre para la extracción de ADN y genotipificación. Se creó una base de datos con la información de cada paciente, para ello se usó la hoja electrónica en Excel®. La base de datos es resguardada por la investigadora principal en la computadora destinada para el procesamiento de la información del proyecto. Los formularios con los datos personales y antecedentes familiares, están resguardados en la oficina de la investigadora principal. Toda la información generada ha sido mantenida con confidencialidad y seguridad para que solamente accediera a los datos, el equipo de investigadores según la etapa del trabajo y participación durante la preparación de informes. La información es guardada en las instalaciones de la Facultad de CCMM, en la oficina y lugar seguro seleccionado por la investigadora principal.

Los resultados de la secuenciación Sanger fueron recibidos en formatos pdf y AB1, por lo que se usó el software especializado para visualizarlos. En este caso se utilizó el software Sequencher v.5.4.6, con el que se alinearon las secuencias encontradas en el grupo de los pacientes con GCP con la secuencia de referencia para el gen CYP1B1, encontrada en el GenBank (NM_000104.4).

Para identificar las variantes encontradas en nuestras muestras, se usó el software de Codon Code Aligner y por último, el efecto de estas variantes se probó con Mutation taster (<https://www.mutationtaster.org/>). Los tres programas para el análisis son gratuitos y se fueron descargados en el ordenador del equipo de investigadores.

Las variantes encontradas en el gen CYP1B1 de los pacientes con GCP se contrastaron con el banco de datos en busca de un efecto sobre el fenotipo de la proteína; en ninguna de las muestras de los pacientes del grupo de referencia se observó variantes del gen CYP1B1 por lo tanto no fue posible analizar diferencia de frecuencia de mutaciones entre ambos grupos.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Las diferencias en las frecuencias de las variantes pueden aumentar o disminuir la probabilidad de presentar glaucoma congénito primario, tomando en cuenta el efecto de la variante en el fenotipo. Se contempló explorar cuantitativamente la asociación entre presencia de mutaciones en el gen CPY1B1 y el padecimiento de GCP, pero no fue posible aplicar ninguna de las pruebas estadísticas planificadas debido a la ausencia de mutaciones en el CYP1B1 en el grupo de pacientes sin glaucoma congénito primario

La estadística que se usó para preparar la presentación y análisis de los resultados es la estadística descriptiva.

Aspectos éticos y legales:

La investigación que se presenta se sometió a revisión del Comité de Bioética en Investigación en Salud de la Universidad de San Carlos de Guatemala, contando con el dictamen favorable para su realización, previo a su realización. (Anexo)

Se solicitó el consentimiento informado a los participantes del estudio, tanto del grupo de pacientes como del grupo de referencia.

Los resultados obtenidos fueron entregados a los médicos oftalmólogos de la Clínica de Glaucoma del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” para que puedan ser entregados a los pacientes participantes en el estudio y brindar orientación de acuerdo al resultado obtenido.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

8 Resultados y discusión

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Tabla 1. Descripción general de los participantes

Característica	Pacientes con GCP* N= 28	Pacientes sin GCP* N = 32	TOTAL
Sexo			
Femenino	13	23	36 (60%)
Masculino	15	9	24 (40 %)
Edad			
Mínima	18	18	
Máxima	65	64	
Promedio	36.4	36.5	
Desviación estándar	12.6	14.6	Valor p 0.97
Procedencia			
Guatemala	13	26	38
Sacatepéquez	4	2	6
Escuintla	3	1	4
Chimaltenango	2	1	3
Retalhuleu	2	0	2
Alta Verapaz	1	0	1
Jutiapa	1	0	1
San Marcos	1	0	1
Zacapa	1	0	1
Huehuetenango	0	1	1
Quiche	0	1	1

GCP* Glaucoma Congénito Primario

En la tabla 1 se observan las características de los participantes de los dos grupos de pacientes. En general hubo mayor participación de mujeres que de hombres, particularmente en el grupo de pacientes sin glaucoma congénito primario. El valor de p indica que no hubo diferencia estadísticamente significativa en la composición por edad entre ambos grupos. La diversidad en el dato de la procedencia refleja que los pacientes residen mayoritariamente en



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

el departamento de Guatemala. Sin embargo es interesante notar que en el grupo de pacientes con glaucoma congénito primario sí observamos mayor frecuencia en la procedencia del interior del país, ello debido a que son pacientes crónicos que asisten periódicamente a sus citas y deben ser atendidos en una clínica subespecializada en la enfermedad que les aqueja; en tanto que el grupo de referencia estuvo integrado por personas que asistieron por primera vez a consulta general del hospital y por tanto buscan atención en lugares accesibles al cual residen que es el departamento de Guatemala. Por otro lado, el Comité Prociegos y Sordos de Guatemala cuenta con sedes departamentales que brindan atención oftalmológica general, las personas con patologías específicas que requieren atención por subespecialidad, son referidas a la sede central que es el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” en la ciudad capital.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 2. Mutaciones en el gen *CYP1B1* en pacientes con glaucoma congénito Primario

Mutaciones encontradas en los pacientes con GCP*	Clasificación ClinVar ^a
F440V	Significado incierto
I471S	Significado incierto
S215R	Significado incierto
A383D	Probablemente patogénico
L378Q	Probablemente patogénico
L385H	Probablemente patogénico
N423T	Probablemente patogénico
N423T	Probablemente patogénico
L385Y	Probablemente patogénico
N423T	Probablemente patogénico
D192H	Patogénico/Probablemente patogénico
A237F	Patogénico/Probablemente patogénico
A237L	Patogénico/Probablemente patogénico
R390P	Patogénico
G232R	Patogénico
G61R	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
G61R	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
A287D	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
A287D	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad

GCP* Glaucoma Congénito Primario

Nota: ^a hg38 Human: ClinVar Short Variants A), 2025)

Para el análisis de los resultados, las muestras de cada paciente se corrieron por triplicado. Se utilizó la clasificación ClinVar para identificar la significancia clínica de las mutaciones encontradas (Tabla 2)



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Se observó la presencia de alguna mutación del gen CYP1B1 en 19 resultados de las 180 muestras analizadas. Se analizaron 84 muestras de 28 pacientes con glaucoma congénito primario y 96 muestras de 32 pacientes sin glaucoma.

Con base en la clasificación ClinVar, los resultados muestran que dos mutaciones encontradas son patogénicas, 3 están clasificadas como patogénicas/probablemente patogénicas. 7 mutaciones fueron encontradas como probablemente patogénicas. 4 mutaciones fueron clasificadas como conflictivas de patogenicidad y para tres mutaciones el significado fue incierto (tabla 2).



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 3. Similitudes en las mutaciones del gen *CYP1B1* descritas para el diagnóstico de GCP*

*Mutación en pacientes guatemaltecos	Mutación descrita en otras poblaciones	Población extranjera que presenta mutación	Clasificación/estatus ClinVar
R390P	R390H/R390S/ R390C	Marruecos ^a , India ^b Estados Unidos ^c China ^d	Patogénico
G232R	G232R	Francia ^e	Patogénico
D192H	D192V	Japón ^f , Australia ^g	Patogénico/Probablemente patogénico
A237F	A237E	España ^h , Italia ⁱ	Patogénico/Probablemente patogénico
A237L	A237E	España ^h , Italia ⁱ	Patogénico/Probablemente patogénico
A383D	A383T	Reino Unido ^j	Probablemente patogénico
L378Q	L378Q	Portugal ^k y Brasil ^l	Probablemente patogénico
L385H	L385F	China ^m	Probablemente patogénico
N423T	N423Y	Francia ^e	Probablemente patogénico
N423T	N423Y	Francia ^e	Probablemente patogénico
L385Y	L385F	China ^m	Probablemente patogénico
N423T	N423Y	Francia ^e	Probablemente patogénico
G61R	G61R	Arabia Saudita	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
G61R	G61R	Arabia Saudita	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
A287D	A287T	China ⁿ	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
A287D	A287T	China ⁿ	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
F440V	F440C	Italia ^o	Significado incierto
I471S	I471S	China ^p	Significado incierto
S215R	S215T	Japón	Significado incierto

GCP*. Glaucoma Congénito Primario



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Nota: ^aHilal, L. et al (2010) ^bTanwar, M. et al (2009) ^cLim, S. (2013) ^d Liu, T. et al (2020) ^eMelki, R. (2004) ^fFuse, N. (2010) ^gDimasi, D. (2007) ^hMedina-Trillo, C. (2016) ⁱGiuffre' I. (2011). ^jAl-Saei, O. (2024) ^kSimões, M. J (2016) ^lPaolera, Maurício (2010) ^mJiang, F. G. (2007) ⁿChen Y,(2008) ^pYang, M. (2009)

De las 19 mutaciones encontradas en el grupo de pacientes con glaucoma congénito primario, 4 ya habían sido reportadas en otras poblaciones, G232R, L378Q, G61R, I471S. La mutación N423T se presentó en 3 pacientes, G61R apareció en 2 ocasiones, A287D apareció 2 veces y I471S solamente en una ocasión para las muestras analizadas.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 4. Fenotipo de las variantes del gen *CYP11B1* en pacientes con GCP*

Identificación del paciente**	Sexo	Edad	Resultados de la secuenciación	Clasificación ClinVar
01	M	31	R390P L385Y N423T	Patogénico Probablemente patogénico Probablemente patogénico
02	M	40	G232R G61R	Patogénico Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
03	F	52	D192H S215R	Patogénico/Probablemente patogénico Significado incierto
04	M	33	A237F A287D	Patogénico/Probablemente patogénico Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
05	F	29	A237L A287D	Patogénico/Probablemente patogénico Clasificaciones conflictivas de patogenicidad
06	M	33	A383D L378Q L385H	Probablemente patogénico Probablemente patogénico Probablemente patogénico
07	F	20	N423T	Probablemente patogénico
08	F	29	N423T F440V I471S	Probablemente patogénico Significado incierto Significado incierto
09	F	33	G61R	Clasificaciones conflictivas de patogenicidad

GCP* Glaucoma Congénito Primario

**el número se creó para fines exclusivos de esta tabla de resultados.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Las 19 variantes encontradas corresponden a 9 pacientes con glaucoma congénito primario. NO se encontró presencia de variantes en pacientes del grupo de Referencia. En la tabla 4 se observa que en 5 pacientes se identificó al menos una mutación con características de patogenicidad. En tres pacientes las mutaciones fueron “probablemente patogénicas” y solamente en una paciente se manifestó una mutación con clasificación conflictiva de patogenicidad.

Con respecto a la edad y el sexo de los pacientes en quienes se encontró mutaciones del gen CYP1B1 no se observa ningún patrón específico, 5 mujeres y 4 hombres; de los 5 pacientes con una variante con clasificación ClinVar “patogénica”, 3 son hombres.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 5. *Riesgo de presentar GCP* en pacientes con presencia de variantes en el gen CYP1B1*

Grupo	Variante del gen CYP1B1		Total
	Presente	Ausente	
Casos	9	19	28
Referencia	0	32	32
TOTAL	9	51	60

GCP* Glaucoma Congénito Primario

Debido a que en ninguno de los pacientes del grupo de referencia se encontró variantes del gen CPY1B1, no es posible estimar la probabilidad de un riesgo comparando ambos grupos. La probabilidad de presentar una variante en el gen fue de 0.32 (9/28) para el grupo de pacientes con glaucoma congénito primario



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 6. Antecedentes familiares de glaucoma en 20 de los pacientes

Número del paciente*	Mutaciones presentes	Antecedente familiar GCP*	Familiar con GCP	Antecedente familiar Glaucoma	Familiar con antecedente de glaucoma
01	A383D L378Q L385H	Si	Padre	No	No
02	N423T	Si	Hermanos/as	No	No
03	A287T A237E	Si	Padre, tío paterno y abuelo paterno	No	No
04	G61R	No	No	Si	Tío paterno
05	N423T F440V I471S	No	No	Si	Abuelos
06	G61R G232R	No	No	Si	Primo Hermano
07	D192H S215R	No	No	No	No
08	R390P L385Y N423T	No	No	No	No
09	A287D A237L	No	No	No	No
10	N	Si	Hermanos/as	No	No
11	N	Si	Hermanos/as	No	No
12	N	Si	Hermanos/as	No	No
13	N	Si	Hermanos/as	No	No
14	N	Si	Tío paterno	No	No
15	N	Si	Abuelo paterno	No	No
16	N	Si	Hermanos/as	Si	Abuela
17	N	No	No	Si	Primo
18	N	No	No	Si	Primo
19	N	No	No	Si	Prima
20	N	No	No	Si	Hermana, tía, abuela



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

*El número del paciente se asignó específicamente para esta tabla

GCP** Glaucoma Congénito Primario. ***Glaucoma se refiere a otro tipo diferente al GCP

En la tabla 6 se observa que 10 de los 28 pacientes con glaucoma congénito primario refirieron el antecedente familiar de GCP y 8 refirieron antecedente familiar de otro tipo de glaucoma. Tres de los 9 pacientes con alguna mutación del gen CYP1B1 refirieron el antecedente familiar de GCP en familiares como abuelos, tío paterno, o un primo-hermano. Otros 3, refirieron antecedente familiar de otro tipo de glaucoma.

7 de los pacientes con resultado negativo para mutación del gen CYP1B1, refirieron antecedente familiar de GCP en abuelo paterno, tío paterno o hermano/as; uno de ellos también refirió el antecedente de glaucoma en la abuela. Cinco de los pacientes con GCP sin resultado de mutación genética, refirieron antecedente familiar de cualquier tipo de glaucoma en familiares como abuela, hermana, tía, o primos/as. Un paciente manifestó antecedente familiar tanto para glaucoma congénito primario como para otros tipos de glaucoma, sin embargo, no presentó mutaciones del gen CYP1B1. En general el 71% de los pacientes con glaucoma congénito primario refirió antecedente familiar de alguna forma de glaucoma.

DISCUSION DE RESULTADOS:

La composición de los grupos de pacientes en esta investigación estuvo determinada por la disponibilidad de los pacientes para participar. En el grupo de pacientes con Glaucoma Congénito Primario GCP, no hubo diferencia marcada entre la cantidad de hombres y mujeres, a diferencia del grupo de pacientes sin glaucoma en el que participaron más mujeres que hombres (72%). No hubo diferencia significativa en la edad de los participantes de ambos grupos. Los datos de procedencia reflejan el departamento geográfico en el que residen los pacientes, en ambos grupos la mayoría proviene de Guatemala o departamentos cercanos, 6 pacientes residen en departamentos alejados de la ciudad capital (tabla 1). Los pacientes con GCP asisten al hospital para controles anuales, sin embargo, el costo del traslado es un elemento que les dificulta permanecer por varios años en el programa de seguimiento de la enfermedad debido a que llegan acompañados de un familiar.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Para identificar las variantes de las mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con GCP, se procesaron 180 muestras sanguíneas, encontrando alguna mutación en 19 de ellas, (todas correspondientes al grupo de pacientes). Se utilizó el sistema de clasificación de 5 niveles que dictan las guías de interpretación de variantes genéticas del Colegio americano de genética médica y genómica (ACMG) que por su significancia clínica se describen como: 1) patogénicas 2) Probablemente patogénicas 3) Significado incierto 4) Probablemente benignas 5) Benignas. En la tabla 2 puede observarse que de las 19 muestras que evidenciaron mutaciones, 5 de ellas están clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas; que de acuerdo con la clasificación antes descrita significa que corresponden a variantes genéticas que han demostrado estar asociadas a la enfermedad con certeza mayor al 90% (Richards S, et al 2015). Estas categorías corresponden al 26% del total de variantes encontradas. Si a ello sumamos las 7 mutaciones clasificadas como probablemente patogénicas, se alcanza el 63% de variantes encontradas con algún rasgo de patogenicidad. Es importante mencionar que el 53% de las variantes encontradas, corresponden a mutaciones no descritas para otras poblaciones con lo que se aporta información importante para la investigación sobre el GCP, sobre todo porque en la caracterización de dichas variantes, estas fueron clasificadas como altamente relacionadas con la enfermedad. Las variantes no descritas con anterioridad consideradas como patogénicas y/o probablemente patogénicas incluyen las siguientes: R390P, D192H, A237F, A237L, A383D, L385H, N423T, L385Y.

Se identificaron 19 variantes en 9 pacientes con glaucoma congénito primario estudiados de las cuales 14 no se han descrito anteriormente, estas incluyen 8 clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas que son las siguientes: c.R390H→P, c. D192V→H, c.A237E→F, c.A237E→L, c. A383T→D, c. L385F→H, c. N423Y→T (se presentó en 3 casos) c. L385F→Y. Las variantes encontradas con clasificaciones conflictivas de patogenicidad o significado incierto fueron: c. A287T→D (se presentó en 2 casos). c.F440C→V, c. S215T→R.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

De las 19 variantes encontradas, 4 de las mutaciones habían sido ya descritas con anterioridad en poblaciones extranjeras (Allingham 2021) lo cual es de esperar pues el CYP1B1 es el gen más ampliamente asociado al glaucoma congénito primario y se han caracterizado más de 140 mutaciones (Manali Shah et. al 2022), una de las 4 variantes ya descritas G232R es considerada como patogénica y otra L378Q como probablemente patogénica que son aquellas que revisten importancia en la etiología de la enfermedad de acuerdo a la clasificación de ACMG; las otras dos encontradas G61R está clasificada como conflictiva de patogenicidad y I471S está clasificada como de significado incierto, lo cual las ubica en aquellas en las cuales no se ha sustentado suficiente evidencia o bien no han sido suficientemente evaluadas para relacionarlas directamente con la enfermedad (Richards S, et al 2015). La variante **N423T**, está catalogada como probablemente patogénica se encontró en 3/9 pacientes positivos para presencia de mutación, y es una variante no descrita con anterioridad para otras poblaciones por lo que es relevante para investigaciones futuras en población guatemalteca, cuando se pueda implementar un tamizaje a mayor escala.

La variante A287D estuvo presente en 2 de las 19 mutaciones en las cuales se identificaron variantes nuevas, sin embargo, su clasificación es incierta con relación a la enfermedad estudiada.

En la tabla 3 también se observa que la mayoría de mutaciones ya descritas corresponden a poblaciones europeas y asiáticas; es interesante notar que varias de ellas han sido descritas en poblaciones chinas, hindúes y árabes del continente asiático (Jiang, F. G. et. al 2007), del continente africano se ha estudiado la población marroquí, y para Europa Francia, Italia y España. (Medina-Trillo. et.al 2016)

Para América Latina solamente en dos países se han descrito mutaciones para el gen CYP1B1, siendo uno de ellos Brasil en donde mencionan la mutación L378Q (Paloera Mauricio, et. al 2013) la cual también se encontró en nuestra población de estudio; y en Estados Unidos se mencionan variantes encontradas como la R390C (Lim, S. H. et. al 2013)

Vemos en esta tabla 3 que hay gran variabilidad de la procedencia geográfica de las mutaciones descritas para el gen CYP1B1 en pacientes con GCP.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tres de los pacientes estudiados presentaron tres diferentes variantes; siendo notable el hecho que en dos de ellos las variantes están clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas que son aquellas que con mayor probabilidad se relacionan con la enfermedad (tabla 4); se ha descrito en la literatura que la presentación de las mutaciones varían de acuerdo a etnicidad, también que incrementan cuando existe consanguinidad (Allingham et. al 2021; hace falta explorar la posibilidad de que el número de variantes en una sola persona influya en las manifestaciones clínicas de la enfermedad que es bien sabido que es de herencia autosómica recesiva en un alto porcentaje de casos.

9 Propiedad intelectual:

10 Beneficiarios directos e indirectos

Tabla 2. Beneficiarios directos e indirectos de la investigación

Resultados, productos o hallazgos	Beneficiarios directos (institución, organización, sector académico o tipo de personas)	Número de beneficiarios directos	Beneficiarios indirectos (institución, organización, sector académico o tipo de personas)	Número de Beneficiarios indirectos
Conocer las frecuencias de las mutaciones en el gen CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito en el Hospital de ojos y oídos Rodolfo	Facultad de Ciencias Médicas USAC, área de investigación	10	Estudiantes de grado y posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas USAC	500
	Médicos glaucomatólogos del Hospital de ojos y oídos Rodolfo Robles Valverde	10	Personal médico del Hospital de ojos y oídos Rodolfo Robles Valverde	50
	Pacientes que asisten a consulta por Glaucoma Congénito Primario	250	Familiares de los pacientes con Glaucoma Congénito Primario	300



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Resultados, productos o hallazgos	Beneficiarios directos (institución, organización, sector académico o tipo de personas)	Número de beneficiarios directos	Beneficiarios indirectos (institución, organización, sector académico o tipo de personas)	Número de Beneficiarios indirectos
Robles Valverde.	Pacientes que participaron en la investigación	60 pacientes		

11 Estrategia de divulgación y difusión de los resultados.

Los resultados del estudio, serán presentados en una de las sesiones científicas que el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” realiza semanalmente para divulgar los hallazgos con el cuerpo médico de dicha institución, que está integrado por oftalmólogos subespecialistas de las diferentes disciplinas oftalmológicas, así como médicos residentes de Oftalmología y los directores médicos y de posgrado del Hospital.

Para la difusión y divulgación de los resultados de esta investigación se planea realizar conferencias dirigidas a los especialistas de las áreas de oftalmología y subespecialistas en glaucoma de las otras entidades que brindan servicio oftalmológico, que nos ayuden a hacer visible la importancia de las variantes del gen CYP1B1 en el desarrollo de glaucoma congénito. Así mismo, de ser posible, se desea participar en congresos de oftalmología que hagan visibles los resultados obtenidos, siendo el primer estudio de esta índole realizado en Guatemala. Por último, los resultados serán publicados en una revista indexada, que permita exponer nuestros resultados ante la comunidad científica y académica tanto a nivel nacional como internacional

Se considera de suma importancia también la educación en salud para la población guatemalteca a través de la difusión en materiales en versión digital y divulgación de resultados a los estudiantes de grado y posgrado, para hacer visible una patología que generalmente pasa desapercibida y que si detectamos los signos iniciales y nuestros estudiantes pueden referir a estos pacientes a centros especializados para un abordaje



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

temprano, incidiremos en preservan la visión útil de nuestros pacientes, lo que redundará en mejorar su calidad de vida y su inserción futura a la sociedad.

La información será presentada al Comité Prociegos y Sordos de Guatemala, con la finalidad de la divulgación a nivel masivo dado que el Comité cuenta con medios radiales, y escritos que pudiesen facilitar su divulgación.

Tabla 3

	Sí	No
Presentación TV		X
Entrevistas radiales	X	
Podcast		X
Entrevista DIGI	X	
Recursos audiovisuales	X	
Congresos científicos nacionales o internacionales	X	
Talleres		X
Publicación de libro		X
Publicación de artículo científico	X	
Divulgación por redes sociales institucionales	X	
Presentación pública	X	
Presentación autoridades USAC	X	
Presentación a beneficiarios directos		X
Entrega de resultados	X	
Docencia en grado	X	
Docencia postgrado	X	



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

	Sí	No
Póster científico	X	
Trifoliales		X
Conferencias	X	
Otro (describa)		

12 Contribución a las Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND)

Los resultados de esta investigación, contribuyen a la prioridad nacional de desarrollo llamada “Acceso a servicios de salud”. Esto debido a que las pruebas moleculares, en varias partes del mundo, se están convirtiendo en pruebas de rutina para enfermedades crónicas. Sin embargo, para Guatemala la mayor parte de la población no tiene acceso a este tipo de pruebas. Específicamente para el glaucoma congénito primario, la detección de mutaciones o variantes en el gen CYP1B1 puede permitir la detección temprana de la enfermedad en recién nacidos. Esto permitirá que el glaucomatólogo intervenga oportunamente con abordaje médico quirúrgico con la finalidad de detener la progresión de la enfermedad. Los subespecialistas en glaucoma serán los encargados de aplicar y analizar los resultados de esta investigación, haciendo posible su aplicación en la detección de variantes en recién nacidos y prevención del GCP.

13 Contribución al desarrollo de iniciativas de ley

No aplica

14 Vinculación

Con la realización del presente estudio se logró el trabajo en conjunto entre la Facultad de Ciencias Médicas y el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”, Centro de referencia de enfermedades oftalmológicas en Guatemala; producto de ello se está trabajando actualmente en una carta de entendimiento para realizar investigación conjunta, lo cual redundará en aumentar la proyección de la Facultad de Ciencias Médicas en investigación



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

que impacte en un sector de la población guatemalteca, como son las personas con enfermedades oculares.

El vínculo directo fue con un grupo multidisciplinario de investigadoras de la Facultad de Ciencias Médicas y con la Dirección de Investigación, a través del CIB que es un centro que pone a disposición los equipos para el diagnóstico en el campo de la biología molecular.

15 Conclusiones:

1. En los pacientes guatemaltecos con diagnóstico de glaucoma congénito primario del Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles V. fueron identificadas 11 variantes del gen CYP1B1 que no han sido descritas anteriormente en poblaciones extranjeras; 8 de ellas consideradas patogénicas o probablemente patogénicas.
2. Las variantes de las mutaciones del gen CYP1B1 encontradas en pacientes guatemaltecos que participaron en esta investigación, según la clasificación ClinVAR, en su mayoría son de importancia clínica porque indican rasgos de patogenicidad. Solamente en 2 pacientes los resultados no fueron concluyentes pues las variaciones encontradas en ellos (F440V, I471S y G61R) son consideradas como de “Significado incierto” o “Clasificaciones conflictivas de patogenicidad”
3. Encontrar variantes de mutaciones del gen CYP2B1 que no habían sido descritas anteriormente en las poblaciones estudiadas es un resultado relevante para el país porque provee avances en el conocimiento de las variaciones del gen ligado a la presencia de glaucoma congénito primario.
4. Los resultados de esta investigación son consistentes con hallazgos de otros países en relación a la frecuencia en la que los pacientes con GCP pueden presentar mutaciones del gen CYP1B1. No hubo diferencia entre la presencia de variaciones del gen en relación al sexo y edad de los pacientes.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

5. Los resultados de este estudio demuestran la diversidad de mutaciones del gen CYP1B1 como se menciona en la literatura internacional. La mutación N423T fue la mutación detectada con mayor frecuencia en las muestras analizadas.

16 Recomendaciones

1. Continuar con investigaciones sobre la presencia de mutaciones que conlleven un estudio genético más extenso en pacientes con glaucoma congénito primario para que los resultados aporten avances en el conocimiento de las variaciones del gen ligado a la presencia de glaucoma congénito primario.
2. Incorporar consejería genética para adultos con glaucoma congénito primario para fortalecer la detección temprana y el tratamiento oportuno dirigido a reducir la discapacidad en futuras generaciones.
3. Divulgar la información a los médicos pediatras con la finalidad de promover la detección temprana de la enfermedad para una referencia oportuna a centros especializados de glaucoma congénito primario.
4. Realizar campañas de difusión para informar a la población general sobre la existencia de la enfermedad y la importancia en la detección temprana de la misma.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Referencias

- Aboobakar, I. F., & Wiggs, J. L. (2022). The genetics of glaucoma: Disease associations, personalised risk assessment and therapeutic opportunities-A review. *Clinical & experimental ophthalmology*, 50(2), 143–162. <https://doi.org/10.1111/ceo.14035>
- Abu-Amero, K. K., Osman, E. A., Mousa, A., Wheeler, J., Whigham, B., Allingham, R. R., ... & Al-Obeidan, S. A. (2011). Screening of CYP1B1 and LTBP2 genes in Saudi families with primary congenital glaucoma: genotype-phenotype correlation. *Molecular vision*, 17, 2911.
- Allingham, R. R., Moroi, S., Shields, M. B., & Damji, K. (2020). *Shields' Textbook of Glaucoma*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Al-Saei, O., Malka, S., Owen, N. et al. Increasing the diagnostic yield of childhood glaucoma cases recruited into the 100,000 Genomes Project. *BMC Genomics* 25, 484 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10353-8>
- Alsaif, H. S., Khan, A. O., Patel, N., Alkuraya, H., Hashem, M., Abdulwahab, F., ... & Alkuraya, F. S. (2019). Congenital glaucoma and CYP1B1: an old story revisited. *Human genetics*, 138, 1043–1049. <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1878-z>.
- Badawi, A. H., Al-Muhaylib, A. A., Al Owaifeer, A. M., Al-Essa, R. S., & Al-Shahwan, S. A. (2019). Primary congenital glaucoma: An updated review. *Saudi Journal of Ophthalmology*, 33(4), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.sjopt.2019.10.002>.
- Carstens, N., Goolam, S., Hulley, M., Brandenburg, J. T., Ramsay, M., & Williams, S. E. I. (2023). Exome-based mutation screening in South African children with primary congenital glaucoma. *Eye*, 37(2), 362–368. <https://doi.org/10.1038/s41433-022-01941-7>.
- Cascella, R., Strafella, C., Germani, C., Novelli, G., Ricci, F., Zampatti, S., & Giardina, E. (2015). The genetics and the genomics of primary congenital glaucoma. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/321291>.
- Chan, J. Y. Y., Choy, B. N., Ng, A. L., & Shum, J. W. (2015). Review on the management of primary congenital glaucoma. *Journal of current glaucoma practice*, 9(3), 92. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10008-1192>.
- Chen Y, Jiang D, Yu L, et al. CYP1B1 and MYOC Mutations in 116 Chinese Patients With Primary Congenital Glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2008;126(10):1443–1447. doi:10.1001/archophth.126.10.1443
- Coêlho, R. E., Sena, D. R., Santa Cruz, F., Moura, B. C., Han, C. C., Andrade, F. N., & Lira, R. P. (2019). CYP1B1 gene and phenotypic correlation in patients from Northeastern Brazil with primary congenital glaucoma. *Journal of Glaucoma*, 28(2), 161. <https://doi.org/10.1097/IJG.0000000000001132>.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- Dimasi, D. P., Hewitt, A. W., Straga, T., Pater, J., MacKinnon, J. R., Elder, J. E., Casey, T., Mackey, D. A., & Craig, J. E. (2007). Prevalence of CYP1B1 mutations in Australian patients with primary congenital glaucoma. *Clinical genetics*, 72(3), 255–260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00864.x>
- Faiq, M. A., Dada, R., Qadri, R., & Dada, T. (2015). CYP1B1-mediated pathobiology of primary congenital glaucoma. *Journal of current glaucoma practice*, 9(3), 77. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10008-1189>.
- Faiq, M., Mohanty, K., Dada, R., & Dada, T. (2013). Molecular diagnostics and genetic counseling in primary congenital glaucoma. *Journal of Current Glaucoma Practice*, 7(1), 25. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10008-1133>.
- Fuse, N., Kimura, M., Shimizu, A., Koshihara, S., Hamanaka, T., Nakamura, M., Ishida, N., Sakai, H., Ikeda, Y., Mori, K., Endo, A., Nagasaki, M., Katsuoka, F., Yasuda, J., Matsubara, Y., Nakazawa, T., & Yamamoto, M. (2024). Mutations of CYP1B1 and FOXC1 genes for childhood glaucoma in Japanese individuals. *Japanese journal of ophthalmology*, 68(6), 688–701. <https://doi.org/10.1007/s10384-024-01103-0>
- Giuffre' I. (2011). Molecular analysis of Italian patients with congenital glaucoma. *Ophthalmic genetics*, Advance online publication. <https://doi.org/10.3109/13816810.2011.596891>
- Haddad, A., Ait Boujmia, O. K., El Maaloum, L., & Dehbi, H. (2021). Meta-analysis of CYP1B1 gene mutations in primary congenital glaucoma patients. *European journal of ophthalmology*, 31(6), 2796-2807. <https://doi.org/10.1177/11206721211016308>.
- Hilal, L., Boutayeb, S., Serrou, A., Refass-Buret, L., Shisseh, H., Bencherifa, F., El Mzibri, M., Benazzouz, B., & Berraho, A. (2010). Screening of CYP1B1 and MYOC in Moroccan families with primary congenital glaucoma: three novel mutations in CYP1B1. *Molecular vision*, 16, 1215–1226.
- hg38 Human: ClinVar Short Variants A*. (2025, 13 de enero). UCSC Genome Browser Home. https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgc?hgsid=1323378115_kWMItsaTxBdKX6bWMIa14OInoZIP&db=hg38&p;c=chr2&l=38071160&r=38071361&o=38071250&t=38071251&g=clinvarMain&i=G%3EA
- Hoskinson DC, Dubuc AM, Mason-Suares H. The current state of clinical interpretation of sequence variants. *Curr Opin Genet Dev*. 2017 Feb;42:33-39. doi: 10.1016/j.gde.2017.01.001. Epub 2017 Jan 31. PMID: 28157586; PMCID: PMC5446800.
- Lim, S. H., Tran-Viet, K. N., Yanovitch, T. L., Freedman, S. F., Klemm, T., Call, W., Powell, C., Ravichandran, A., Metlapally, R., Nading, E. B., Rozen, S., & Young, T. L. (2013). CYP1B1, MYOC, and LTBP2 mutations in primary congenital



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- glaucoma patients in the United States. *American journal of ophthalmology*, 155(3), 508–517.e5. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2012.09.012>
- Jiang, F. G., Liu, X. W., & Hou, H. P. (2007). [Zhonghua yan ke za zhi] Chinese journal of ophthalmology, 43(9), 779–783.
- Ko, F., Papadopoulos, M., & Khaw, P. T. (2015). Primary congenital glaucoma. *Progress in brain research*, 221, 177-189. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2015.06.005>.
- Leysen, L., Cassiman, C., Vermeer, S., Casteels, I., & Balikova, I. (2022). Genetics in primary congenital glaucoma: Implications in disease management and counseling. *European Journal of Medical Genetics*, 65(1), 104378. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2021.104378>.
- Li, N., Zhou, Y., Du, L., Wei, M., & Chen, X. (2011). Overview of Cytochrome P450 1B1 gene mutations in patients with primary congenital glaucoma. *Experimental eye research*, 93(5), 572-579. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2011.07.009>.
- Ling, C., Zhang, D., Zhang, J., Sun, H., Du, Q., & Li, X. (2020). Updates on the molecular genetics of primary congenital glaucoma. *Experimental and therapeutic medicine*, 20(2), 968-977. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8767>.
- Libby, R. T., Smith, R. S., Savinova, O. V., Zabaleta, A., Martin, J. E., Gonzalez, F. J., & John, S. W. (2003). Modification of ocular defects in mouse developmental glaucoma models by tyrosinase. *Science*, 299(5612), 1578-1581.
- Liu, T., Tang, C., & Shi, X. (2020). Analysis of variants in Chinese individuals with primary open-angle glaucoma using molecular inversion probe (MIP)-based panel sequencing. *Molecular vision*, 26, 378–391.
- López-Garrido, M. P., Medina-Trillo, C., Morales-Fernandez, L., Garcia-Feijoo, J., Martínez-de-la-Casa, J. M., García-Antón, M., & Escribano, J. (2013). Null CYP1B1 genotypes in primary congenital and nondominant juvenile glaucoma. *Ophthalmology*, 120(4), 716-723. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.09.016>.
- Malik, R., Khandekar, R., Boodhna, T., Rahbeeni, Z., Al Towerki, A. E., Edward, D. P., & Abu-Amero, K. (2017). Eradicating primary congenital glaucoma from Saudi Arabia: the case for a national screening program. *Saudi journal of ophthalmology*, 31(4), 247-249. <https://doi.org/10.1016/j.sjopt.2017.08.002>.
- Shah, M., Bouhenni, R., & Benmerzouga, I. (2022). Geographical Variability in CYP1B1 Mutations in Primary Congenital Glaucoma. *Journal of clinical medicine*, 11(7), 2048. <https://doi.org/10.3390/jcm11072048>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- Mandal, A. K., & Chakrabarti, D. (2011). Update on congenital glaucoma. *Indian journal of ophthalmology*, 59(Suppl1), S148. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.73683>.
- Medina-Trillo, C., Ferre-Fernández, J. J., Aroca-Aguilar, J. D., Bonet-Fernández, J. M., & Escribano, J. (2016). Functional characterization of eight rare missense CYP1B1 variants involved in congenital glaucoma and their association with null genotypes. *Acta ophthalmologica*, 94(7), e555–e560. <https://doi.org/10.1111/aos.13017>
- Melki, R., Colomb, E., Lefort, N., Brézin, A. P., & Garchon, H. J. (2004). CYP1B1 mutations in French patients with early-onset primary open-angle glaucoma. *Journal of medical genetics*, 41(9), 647–651. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.020024>
- Moore, D. B., Tomkins, O., & Ben-Zion, I. (2013). A review of primary congenital glaucoma in the developing world. *Survey of ophthalmology*, 58(3), 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2012.11.003>.
- Ophthalmol, J. O. A. (2004). Clinical Guide to Glaucoma Management. In E. j Higginbotham & D. A. Lee (Eds.), *Arch Ophthalmol.* (1st ed., Vol. 123, Issue 4). <https://doi.org/10.1001/archopht.123.4.585>
- Ou, Z., Liu, G., Liu, W., Deng, Y., Zheng, L., Zhang, S., & Feng, G. (2018). Bioinformatics analysis of CYP1B1 mutation hotspots in Chinese primary congenital glaucoma patients. *Bioscience reports*, 38(4). <https://doi.org/10.1042/BSR20180056>.
- Della Paolera, M., de Vasconcellos, J. P., Umbelino, C. C., Kasahara, N., Rocha, M. N., Richeti, F., Costa, V. P., Tavares, A., & de Melo, M. B. (2010). CYP1B1 gene analysis in primary congenital glaucoma Brazilian patients: novel mutations and association with poor prognosis. *Journal of glaucoma*, 19(3), 176–182. <https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181a98bae>
- Rauf, B., Irum, B., Kabir, F., Firasat, S., Naeem, M. A., Khan, S. N., ... & Riazuddin, S. (2016). A spectrum of CYP1B1 mutations associated with primary congenital glaucoma in families of Pakistani descent. *Human genome variation*, 3(1), 1-4. <https://doi.org/10.1038/hgv.2016.21>.
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H. L., & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- Rojas Juárez, S., & Saucedo Castillo, A. (2014). *Oftalmología (El Manual Moderno (ed.); Primera ed.)*.
- Shah, M., Bouhenni, R., & Benmerzouga, I. (2022). Geographical Variability in CYP1B1 Mutations in Primary Congenital Glaucoma. *Journal of clinical medicine*, 11(7), 2048. <https://doi.org/10.3390/jcm11072048>.
- Shahid, M., Azfaralariff, A., Tufail, M., Khan, N. H., Najm, A. A., Firasat, S., ... & Law, D. (2022). Screening of high-risk deleterious missense variations in the CYP1B1 gene implicated in the pathogenesis of primary congenital glaucoma: A comprehensive in silico approach. *PeerJ*, 10, e14132. <https://doi.org/10.7717/peerj.14132>.
- Simões, M. J., Carmona, S., Roberts, R., Wainwright, G., Faro, C., Silva, E., & Egas, C. (2016). CYP1B1 mutational screening in a Portuguese cohort of primary congenital glaucoma patients. *Ophthalmic Genetics*, 38(2), 197–199. <https://doi.org/10.1080/13816810.2016.1188121>
- Suri, F., Yazdani, S., Narooie-Nejhad, M., Zargar, S. J., Paylakhi, S. H., Zeinali, S., Pakravan, M., & Elahi, E. (2009). Variable expressivity and high penetrance of CYP1B1 mutations associated with primary congenital glaucoma. *Ophthalmology*, 116(11), 2101–2109. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.04.045>
- Tanwar, M., Dada, T., Sihota, R., Das, T. K., Yadav, U., & Dada, R. (2009). Mutation spectrum of CYP1B1 in North Indian congenital glaucoma patients. *Molecular vision*, 15, 1200–1209.
- Yang, M., Guo, X., Liu, X., Shen, H., Jia, X., Xiao, X., Li, S., Fang, S., & Zhang, Q. (2009). Investigation of CYP1B1 mutations in Chinese patients with primary congenital glaucoma. *Molecular vision*, 15, 432–437.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Apéndice

Apéndice 1.

Consentimiento informado para pacientes

Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

Este consentimiento informado va dirigido a los pacientes del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” con diagnóstico de glaucoma congénito. Consta de dos secciones: I Información y II el formulario de consentimiento informado de investigación en el cual el paciente declara estar enterado y proporciona su consentimiento de participación en el estudio. El documento será leído por el investigador al paciente y su acompañante. Se solicitará que el acompañante del paciente actúe como su testigo o representante en la aceptación de la participación.

PARTE I. Información

Este estudio consiste en el estudio de las variantes del gen CYP1B1 en pacientes guatemaltecos con glaucoma congénito primario. Los genes son partes pequeñas que están en nuestra sangre y tienen información de cómo se transmiten por herencia algunas características, como el color del cabello o los ojos a nuestros hijos o nietos; si ocurren cambios en estas partes pequeñas, pueden aparecer enfermedades como el glaucoma que se presentan desde el nacimiento y que nos puede llevar a la ceguera si no se detecta a tiempo.

El objetivo principal del estudio es, conocer si hay cambios en una parte pequeña llamada CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito primario que asisten al Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”,

Esto permitirá que el paciente pueda utilizar la información en el futuro para orientar a los hijos y nietos, sobre la posibilidad de heredar el glaucoma congénito primario y que busquen consultas tempranas con el oftalmólogo y así procurar un tratamiento lo antes posible, con el propósito de evitar la ceguera y que puedan realizar una vida normal.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

El glaucoma congénito primario es una enfermedad, que se presenta desde pequeños, antes de los 3 años de edad o bien en el período cercano al nacimiento; frecuentemente se asocia a anomalías de la parte de adelante del ojo. La presencia de la parte pequeña llamada CYP1B1 ha sido asociada a la enfermedad debido a los cambios que se ha encontrado en ella en los pacientes diagnosticados con glaucoma congénito. El 30 o 40% de los familiares pueden heredar el glaucoma.

Si usted acepta participar en este estudio, le solicitaremos que responda a unas preguntas sobre sus datos, también que permita que un técnico de laboratorio tome una muestra de sangre de aproximadamente 5 mililitros. Las complicaciones que pueden presentarse durante la extracción de sangre pueden ser: un moretón (hematoma) y dolor en el sitio de extracción, raras veces el paciente puede tener mareos o desmayos. De presentarse alguna complicación grave al momento de la extracción de la muestra sanguínea, como la punción accidental de arteria, infección en la zona de punción, lesiones nerviosas, entre otras, el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” correrá con los gastos necesarios para su recuperación.

La muestra de sangre será procesada para su identificación del gen cuando estén recogidas las muestras de todos los pacientes que participen. Si usted está de acuerdo, la muestra de sangre será almacenada en congelador para poder ser utilizada en investigaciones futuras de otras partículas (genes) descritas para la enfermedad de glaucoma; si usted no desea que su muestra sea almacenada para estudios futuros, se respetará en todo momento su voluntad. Los resultados individuales no serán divulgados a ninguna institución bajo ninguna circunstancia. La muestra, resultados y demás datos generados por el proyecto serán manejados, analizados y resguardados únicamente por el equipo de investigadores y solamente ellos tendrán acceso a ellos. Los resultados de esta investigación ayudarán a conocer las características genéticas de un grupo de la población guatemalteca. Los resultados serán colocados en el expediente clínico de cada paciente y será el oftalmólogo tratante en el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” quien se los informe y explique.

Beneficios de la Investigación:

Los resultados de esta investigación no le aportarán beneficios directos a la persona que participa, sin embargo, si los resultados muestran que sí tiene cambios en la parte pequeña llamada CYP1B1, el paciente podrá informar a su familia para que hagan chequeos a sus



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

hijos, desde el primer año de vida y busquen consulta con el oftalmólogo especialista, que ayude a disminuir el daño al nervio del ojo, que es causado por el glaucoma congénito primario y lleva a la ceguera permanente.

Usted no recibirá pago ni deberá pagar por los exámenes que se le realizan dentro de esta investigación.

La información que encontremos en esta investigación, puede ayudar al resto de la población guatemalteca para evitar la ceguera.

Es muy importante que usted conozca toda la información, términos y condiciones de la investigación. Si está de acuerdo, y sus dudas han sido aclaradas, le solicitamos que firme el formulario del consentimiento informado.

PARTE II. Aceptación de participar

Declaro que he sido informado/a de la investigación Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” Declaro estar de acuerdo con la toma de muestra de sangre y con la recogida de datos clínicos y personales. Declaro tener conocimiento de que mis datos y resultados serán registrados y guardados en forma confidencial. Declaro haber comprendido la información recibida, que las preguntas que realicé fueron aclaradas y que entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que afecte de ninguna manera mi cuidado médico. Ante cualquier duda o comentario, comunicarse a dmendez2438@medicina.usac.edu.gt.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Doy mi consentimiento para que la muestra de sangre que me fue extraída sea almacenada para ser utilizada en estudios de investigación futuros sobre la enfermedad de glaucoma por un período de 5 años a partir de la fecha.

SI NO

Fecha de ingreso al estudio _____

Nombre del o la paciente _____

Número de teléfono _____

Firma del paciente _____ Huella digital

Declaración de testigo (familiar, persona allegada o representante legal) que ha recibido la información por deseo o discapacidad del paciente.

Nombre completo del testigo _____

Firma del testigo _____ Huella digital

Declaración del médico o investigador que ha informado debidamente a la participante y que se ha proporcionado una copia del Consentimiento Informado de Investigación a la participante.

Nombre del investigador o auxiliar de investigación _____

Firma del Investigador o auxiliar de investigación _____

En caso de que el paciente desee retirar su participación en la investigación, se deja constancia con los siguientes datos.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Revocación del consentimiento informado de investigación.

Fecha de revocación de consentimiento _____

Nombre de la participante _____

Firma del participante _____ Huella digital

Declaración de testigo (familiar, persona allegada o representante legal) que ha recibido la información por deseo o incompetencia de la participante.

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____ Huella digital



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Consentimiento Informado para el grupo control:

Proyecto: Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

Este consentimiento informado va dirigido a pacientes del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”, con diagnóstico de problemas oftalmológicos que no sean glaucoma congénito primario. Consta de dos secciones: I Información y II el formulario de consentimiento informado de investigación en el cual el paciente declara estar enterado y proporciona su consentimiento de participación en el estudio. El documento será leído para el paciente y su acompañante. Se solicitará al paciente o a su acompañante que después de estar informados, brinden la aceptación para participar.

PARTE I. Información

Esta investigación consiste en el estudio de las mutaciones del gen CYP1B1 en pacientes guatemaltecos con glaucoma congénito primario. Los genes son partes pequeñas que están en nuestra sangre y tienen información de cómo se transmiten por herencia algunas características, como el color del cabello o los ojos a nuestros hijos o nietos; si ocurren cambios en estas partes pequeñas, pueden aparecer enfermedades como el glaucoma que se presentan desde el nacimiento y que nos puede llevar a la ceguera si no se detecta a tiempo.

El objetivo principal del estudio es, conocer si hay cambios en una parte pequeña llamada CYP1B1 en pacientes con diagnóstico de glaucoma congénito primario que asisten al Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”,

Esto permitirá que el paciente pueda utilizar la información en el futuro para orientar a los hijos y nietos, sobre la posibilidad de heredar el glaucoma congénito primario y que busquen consultas tempranas con el oftalmólogo y así procurar un tratamiento lo antes posible, con el propósito de evitar la ceguera y que puedan realizar una vida normal.

El glaucoma congénito primario es una enfermedad, que se presenta desde pequeños, antes de los 3 años de edad o bien en el período cercano al nacimiento; frecuentemente se asocia a anomalías de la parte de adelante del ojo. La presencia de la parte pequeña llamada CYP1B1 ha sido asociada a la enfermedad debido a los cambios que se ha encontrado en ella en los pacientes diagnosticados con glaucoma congénito. El 30 o 40% de los familiares pueden heredar el glaucoma.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Usted está siendo invitado a participar en esta investigación porque ni usted, ni alguno de sus familiares cercanos (hermanos, madre, padre, abuelos, ni bisabuelos) sufre de glaucoma congénito primario. Para realizar la investigación, es necesario contar con muestras de sangre de pacientes que no sufren de glaucoma congénito primario. En la sangre de estos pacientes también se buscará la presencia de cambios (mutaciones) de la partícula CYP1B1, y los resultados serán comparados con las muestras de los pacientes con glaucoma. Si usted acepta participar, ingresará al grupo que se conocerá como “grupo control”.

Su participación es voluntaria. Si usted acepta participar en este estudio, le solicitaremos que responda a unas preguntas sobre sus datos, también acepta que un médico tome una muestra de sangre de aproximadamente 5 mililitros. Las complicaciones que pueden presentarse durante la extracción sangre pueden ser: un moretón (hematoma) y dolor en el sitio de la extracción, raras veces el paciente puede tener mareos o desmayos. De alguna complicación grave al momento de la extracción de la muestra sanguínea, como la punción accidental de arteria, infección en la zona de punción, lesiones nerviosas, entre otras, el Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.” correrá con los gastos necesarios para su recuperación.

Si usted está de acuerdo, la muestra de sangre será almacenada en congelador para poder ser utilizada en investigaciones futuras de otras partículas (genes) descritas para la enfermedad de glaucoma; si usted no desea que su muestra sea almacenada para estudios futuros, se respetará en todo momento su voluntad. Los resultados individuales no serán divulgados a ninguna institución en ninguna circunstancia. La muestra, resultados y demás datos generados por el proyecto serán manejados, analizados y resguardados únicamente por el equipo de investigadores y solamente ellos tendrán acceso a los datos. Los resultados de esta investigación ayudarán a conocer las características genéticas de un grupo de la población guatemalteca. Los resultados de su examen serán colocados en su expediente clínico y será el oftalmólogo tratante en el hospital Rodolfo Robles Valverde quien se los informe y explique.

Usted puede decidir no aceptar participar en esta investigación o bien, retirarse en cualquier momento, aunque ya haya aceptado; la atención médica no se verá afectada de ninguna manera. Usted no recibirá pago ni deberá pagar por los exámenes que se le realizan dentro de esta investigación. Las normas éticas en investigación actuales exigen que usted conozca toda la información, términos y condiciones de la investigación. Si usted está de



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

acuerdo, y sus dudas han sido aclaradas, le solicitamos que firme el formulario del consentimiento informado.

PARTE II. Aceptación de participar en el grupo control

Declaro que he sido informado/a de la investigación Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital Rodolfo Robles Valverde.

Declaro estar de acuerdo con la toma de muestra y con la recogida de datos personales. Declaro tener conocimiento de que mis datos y resultados serán registrados y guardados en forma confidencial. Declaro haber comprendido la información recibida, que las preguntas que realicé fueron aclaradas y que entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que afecte de ninguna manera mi cuidado médico.

Ante cualquier duda o comentario, comunicarse a dmendez2438@medicina.usac.edu.gt.

Doy mi consentimiento para que la muestra de sangre que me fue extraída sea almacenada para ser utilizada en estudios de investigación futuros sobre la enfermedad de glaucoma por un período de 5 años a partir de la fecha.

SI NO

Fecha de ingreso al estudio _____

Nombre del o la paciente en el grupo control _____

Número de teléfono _____

Firma del paciente: _____ Huella digital

Declaración de testigo (familiar, persona allegada o representante legal) que ha recibido la información por deseo del o la paciente.

Nombre completo del testigo _____

Firma del testigo _____ Huella digital



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Declaración del médico o investigador que ha informado debidamente al o la participante en el grupo control y que se ha proporcionado una copia del Consentimiento Informado de Investigación a la participante.

Nombre del investigador o auxiliar de investigación _____

Firma del Investigador o auxiliar de investigación _____

En caso de que el paciente desee retirar su participación en la investigación, se deja constancia con los siguientes datos.

Revocación del consentimiento informado de investigación.

Fecha de revocación de consentimiento _____

Nombre del participante _____



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Apéndice 2.

Cuestionario de datos demográficos y antecedentes familiares de pacientes.

Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

1. Identificación para el paciente o control _____
2. Edad _____ años cumplidos
3. Sexo: femenino masculino
4. Procedencia: _____
5. Lugar geográfico de origen: _____

Antecedentes familiares:

6. ¿Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos sufre ceguera desde la infancia?
SI NO
7. ¿Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos padece de glaucoma congénito primario?
SI NO
8. Si alguno de sus familiares cercanos sufre de glaucoma congénito primario ¿recuerda usted de quién se trata?
Padre
Madre
Tío/a materna
Tío/a paterno
Abuela/o materno



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Abuela/o paterno

Hermanos/as suyos

9. ¿Si alguno de sus familiares cercanos padece de Glaucoma congénito, alguno de ellos presenta otras enfermedades crónicas desde el nacimiento?

SI NO

10. Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos padece algún tipo de glaucoma?

SI NO

11. Si alguno de sus familiares cercanos padece de algún tipo de glaucoma ¿De quién se trata?

Anotar: _____



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Mutaciones del gen CYP1B1 asociadas a glaucoma congénito primario en pacientes adultos del Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”

Cuestionario de datos demográficos y antecedentes familiares de Controles

1. Identificación para el paciente o control _____
2. Edad _____ años cumplidos
3. Sexo: femenino masculino
4. Procedencia: _____
5. Lugar geográfico de origen: _____

Antecedentes familiares:

6. ¿Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos sufre ceguera desde la infancia?

SI NO

7. ¿Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos padece de glaucoma congénito primario?

SI NO

8. Si alguno de sus familiares cercanos sufre de glaucoma congénito primario ¿recuerda usted de quién se trata?

Padre

Madre

Tío/a materna

Tío/a paterno

Abuela/o materno

Abuela/o paterno



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Hermanos/as suyos

9. ¿Si alguno de sus familiares cercanos padece de Glaucoma congénito, alguno de ellos presenta otras enfermedades crónicas desde el nacimiento?

SI NO

10. Sabe usted si alguno de sus familiares cercanos padece algún tipo de glaucoma?

SI NO

11. Si alguno de sus familiares cercanos padece de algún tipo de glaucoma ¿De quién se trata?

Anotar: _____



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Apéndice 3.

IMÁGENES DE EQUIPOS DE TRABAJO Y PROCEDIMIENTOS

Equipo de Trabajo contratado por DIGI:



Equipo de trabajo Hospital de Ojos y Oídos Dr. Rodolfo Robles V.





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Reuniones de trabajo con equipo de Hospital de Ojos y Oídos “Dr. Rodolfo Robles V.”



Proceso de almacenaje de muestras en CUM por auxiliar de investigación.





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Se completan las muestras de grupos de referencia y casos

GRUPO REFERENCIA



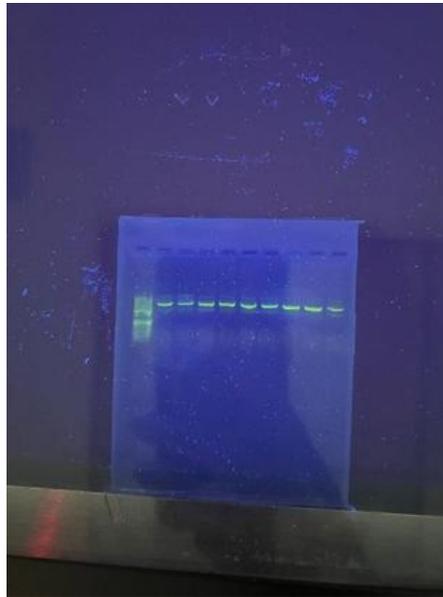
GRUPO CASOS



Proceso de Extracción de ADN



PCR



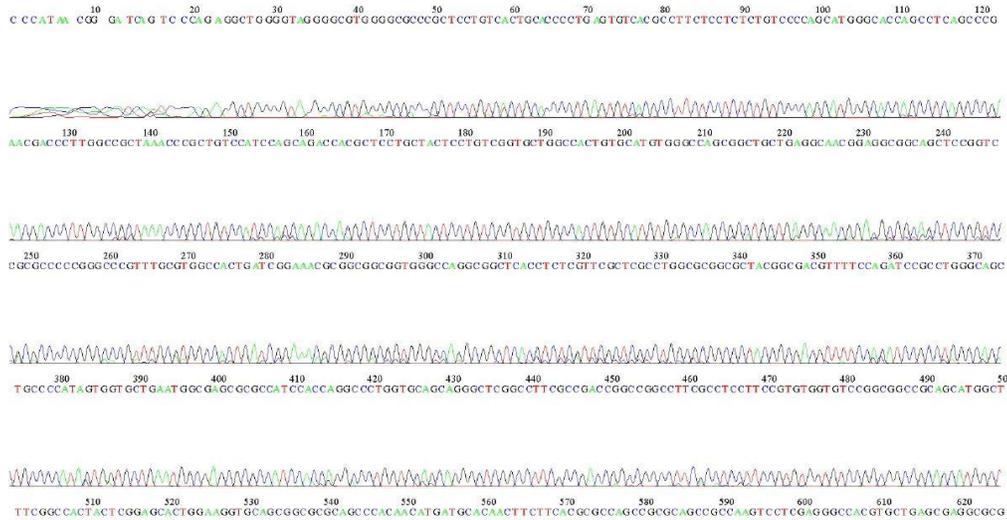


Informe final de Proyecto de Investigación 2024

IMÁGENES DE SECUENCIACIÓN SANGER:

Ejemplo de un caso:

File: SIC11_SETIF.ab1 Run Ended: 2024/11/26 4:36:28 Signal G:3215 A:3688 C:12576 T:4921
Sample: SIC11_SETIF Lane: 34 Base spacing: 16.080797 1385 bases in 15559 scans Page 1 of 2



Ejemplo de un control o referencia:

File: SIC11_SETIF.ab1 Run Ended: 2024/11/26 4:36:28 Signal G:3215 A:3688 C:12576 T:4921
Sample: SIC11_SETIF Lane: 34 Base spacing: 16.080797 1385 bases in 15559 scans Page 1 of 2





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

>H241125-015_K09_S1C1_SET1F.ab1 1146
 CGCATAACTGTATCAGTCCAGAGGCTGGGGTAGGGGCGTGGGGCGCCCG
 CTCCTGTCTCTGCACCCCTGAGTGTACGCGCTTCTCTCTGTGCCCA
 CATGGGCACCAGCCTCAGCCGAACGACCCCTTGGCCGCTAAACCCGCTGT
 CCATCCAGCAGACCAGCTCCTGCTACTCTGTCTGGTGTGGCCACTGTG
 CATGTGGGCCAGCGGCTGTGAGGCAACGGAGGCGGCGAGCTCCGGTCCGC
 GCCCCCGGGCCGTTTGGTGGCCACTGATCGGAAACGCGGCGGGTGG
 GCCAGGCGGCTCACCTCTCGTTCGCTCGCTGGCGGGCGCTACGGCGAC
 GTTTTCCAGATCCGCTGGGAGCTGCCCATAGTGGTGTGAATGGCGA
 GCGCGCATCCACCAGGCCCTGGTGCAGCAGGGCTCGCCCTTCGCCGACC
 GGCCGGCTTCGCTCCTTCCGTGTGGTGTCCGGCGGCGCAGCATGGCT
 TTCGGCCACTACTCGGAGCACTGGAAGGTGCAGCGGCGCGACCCACAA
 CATGATGCACAACCTTTCACGCGCCAACCGCGCAGCCGCAAGTCTCG
 AGGGCCACGTGTGAGCGAGGCGCGGAGCTGGAGGCACTGTGGTGGCG
 GGCAGCGCGGACGGCGCTTCTCGACCCGAGGCGCTGACCGTACATGGC
 CGTGGCCAACGACATGATTGCCGTGTGTTTCGACTGCCGATACACCCAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAATACGAAATAGCAACCTCAGTGTAGTGTG
 CATGGGATCATAAGAGGTACATGAAATGGAGGTCGGGGAGCAGATG
 AGTGAAAGAAAGTTATGACCAGGGTAGGTTGGGGCTCGCGACGTCCTC
 CTTAGTTGGGTTAAATGACGTGGCCAAACAAAGATGAAATAGAAGATAG
 GAATGAAAGCGTAAAAGGACGCACTGGGTTGAAGGACGGAGGTAGTAGT
 GCAGCGCTTATGATTAGAGGATGGTGAATAAAGGATGGACGATGGAGA
 AGAAGAGAACTCACAGCGACAACATAGGGCACGCCGCGCACGGCTGCCG
 TCGTGGGCGAGGGTAGCATATAATACAAGGGAACCGAAATAGTGTG

>H241125-015_M09_S1C2_SET1F.ab1 1202
 CGGATACGGGTAATCAGTCCCAGAGGCTGGGGTAGGGGCGTGGGGCGCC
 GCTCCTGTCTCTGCACCCCTGAGTGTACGCGCTTCTCTCTGTGCCCA
 GCATGGGCACCAGCCTCAGCCGAACGACCCCTTGGCCGCTAAACCCGCTG
 TCCATCCAGCAGACCAGCTCCTGCTACTCTGTCTGGTGTGGCCACTGT
 GCATGTGGGCCAGCGGCTGTGAGGCAACGGAGGCGGAGCTCCGGTCCG
 CGCCCCGGGCCGTTTGGTGGCCACTGATCGGAAACGCGGCGGGTGG
 GGCCAGGCGGCTACCTCTCGTTCGCTCGCTGGCGGGCGCTACGGCGA
 CGTTTTCCAGATCCGCTGGGAGCTGCCCATAGTGGTGTGAATGGCG
 AGCGCGCATCCACCAGGCCCTGGTGCAGCAGGGCTCGGCCCTTCGCCGAC
 CGGCCGGCTTCGCTCCTTCCGTGTGGTGTCCGGCGGCGCAGCATGGC
 TTTGGCCACTACTCGGAGCACTGGAAGGTGCAGCGGCGCGACCCACAA
 ACATGATGCACAACCTTTCACGCGCCAGCCGCGCAGCCGCAAGTCTC
 GAGGGCCACGTGTGAGCGAGGCGCGGAGCTGGAGGCACTGTGGTGGC
 CGGCAGCGGGACGGCGCTTCTCGACCCGAGGCGCTGACCGTATGG
 CCGTGGCCAACGACATGATTGCCGTGTGTTTCGGCTGCCGATACAACCC
 AAGAGGAACAAAAGGTCCGAAAAATAAAGAGCATCGTCTGACGATAGCA
 ACATGATGCCGAGATAACCTAATATAGGGAGGGGTTTATTGGAGAATA
 AGAGAAAATAACGAGCGGAAGGTGAGTGGTGGAGGCCCTTCTCCCTCGG
 CGGGAGTGTGGCGTGAAGCTAGGATGCATAGGCTAGCGGGGAGGACCAA
 GAGAAATACGTACTAAGGGACGGTAAAAGTCAAGCGGAGTGGATTGGGAA
 GTACGGGAGGTGGTGTAGAAGGGCAGTGGGTGGCGGGAGCCGAGGAACTA
 GGAGGTTGGATAGGGACTGAGATCGGGTTGTGGAAGAAAGTGTGAGCTCA
 CGAGTTGAGAACTGTTGCGAGTGGGGTCTGAGAGTGTGAGTCCGATCGAGA
 TGAGCCCGATGTGTGGTTAGAGGGGAGGTTGGGTGGTGGGTTGGAGTGGT
 GG



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Declaración del coordinador (a) del proyecto de investigación

El coordinador (a) de proyecto de investigación con base en el Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación, artículos 13 y 20, dejo constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordino ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Nombre del coordinador (a) del proyecto de investigación	Firma
MSc. Débora Adalgiza Méndez	
Fecha: 19/02/2025	

Aval del director (a) del instituto, centro, unidad o departamento de investigación o coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación otorgo el aval al presente informe final de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: director del instituto, centro, unidad o departamento de investigación o coordinador de investigación del centro universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Vo.Bo. Nombre y cargo de quien da el aval al informe	Firma
Dr. César Oswaldo García García	
Fecha: 19/02/2025	



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Aprobación de la Dirección General de Investigación

<p>Vo.Bo. Nombre coordinador(a) del programa universitario de investigación M.A. Sucelly Orozco de Morales</p>	<p>Firma</p>
<p>Fecha: 19/02/2025</p>	

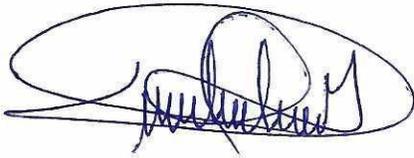
<p>Vo.Bo. Nombre Coordinador General de Programas</p>	<p>Firma</p>
<p>Fecha: 19/02/2025</p>	

/Digi2024

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Declaración del coordinador (a) del proyecto de investigación

El coordinador (a) de proyecto de investigación con base en el Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación, artículos 13 y 20, dejo constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordino ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Nombre del coordinador (a) del proyecto de investigación MSc. Débora Adalgiza Méndez	Firma 
Fecha: 19/02/2025	

Aval del director (a) del instituto, centro, unidad o departamento de investigación o coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación otorgo el aval al presente informe final de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: director del instituto, centro, unidad o departamento de investigación o coordinador de investigación del centro universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

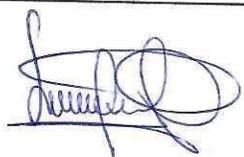
Vo.Bo. Nombre y cargo de quien da el aval al informe Dr. César Oswaldo García García	 Firma
Fecha: 19/02/2025	

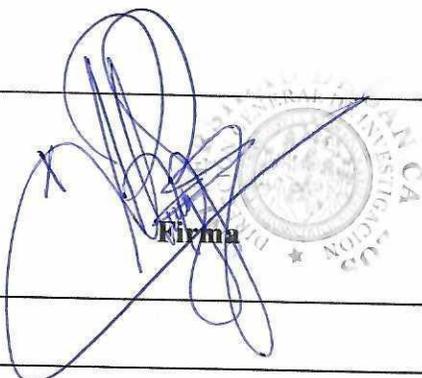


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
Dr. César O. García García
Director de Investigación

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Aprobación de la Dirección General de Investigación

<p>Vo.Bo. Nombre coordinador(a) del programa universitario de investigación M.A. Sucelly Orozco de Morales</p>	<p> Firma</p>
<p>Fecha: 19/02/2025</p>	

<p>Vo.Bo. Nombre Coordinador General de Programas</p>	<p> Firma</p>
<p>Fecha: 19/02/2025</p>	

/Digi2024