RESUMEN

La hormona del crecimiento humano (HGH) es un polipéptido de 191 aminoácidos y peso molecular de 22 kDa que posee los puentes disulfuro intracatenarios entre restos de cisteína localizados en las posiciones 53 y 165 y entre 182 y 189. La hipófisis produce varias isoformas de la HGH debido principalmente a procesamientos alternativos del trascrito primario ó a modificaciones post-traduccionales.
La deficiencia de HGH durante la infancia se manifiesta con velocidad de crecimiento menor al 10% del normal ó curva de talla corta con desviación estándar mayor de 2.5. Hasta el momento se han reconocido 2 clases de deficiencias de la hormona: aislada (IGHD IA, IGHD IB, IGHD II y IGHD III) y combinada (asociada con niveles disminuidos de las otras hormonas de la pituitaria).
En el presente proyecto se reclutó un grupo de pacientes con deficiencia aislada y combinada de HGH con el propósito de determinar las causas de su padecimiento. Se planteó como objetivo principal el localizar mutaciones puntuales ó deleciones, tanto en la región promotora como en la región codificante del gen hGH-N. Asimismo, se planteó determinar las mutaciones que pudieran encontrarse en el gen que codifica para el receptor de la hormona (GHR), así como en los genes de los factores de transcripción que regulan la expresión de su gen, como son el Pit-1 y el Prophet-1.
Para llevar a cabo la búsqueda de mutaciones en estos pacientes se aplicaron dos técnicas: el análisis de heterodúplex y/o el análisis de restricción según fuera el caso de la región del gen que se estuviera analizando. Luego, en caso necesario, cuando el fragmento amplificado fuera demasiado grande, se cortó con una enzima de restricción para producir fragmentos de tamaño adecuado. Finalmente, para analizar los sitios de cambios nucleotídicos se procedió a secuenciar dicha región.
De un total de 25 pacientes analizados, 11 resultaron positivos en la formación de heterodúplex. Cabe mencionar que la totalidad de ellos lo fueron para la región promotora del gen hGH-N. Se eligieron 4 de ellos (basándose en su migración electroforética) para secuenciación, resultando un total de 7 sitios distintos de cambios nucleotídicos en la secuencia del promotor; 6 de estos ya habían sido reportados como polimorfismos en esta región, en tanto que un cambio aún no ha sido reportado y se trata de una inserción de una adenina en la posición –64. Los 14 restantes resultaron negativos en la formación de heterodúplex. En conclusión todas las mutaciones detectadas en los pacientes analizados han sido reportadas como polimorfismos, pero no se puede excluir la posibilidad de que una combinación de ellas puedan en conjunto la expresión del gen hGH-N. Asimismo se estandarizaron las condiciones de amplificación de los exones de los genes: GHR, hGH-N, Pit-1y Prop-1 pero en ninguno de estos genes se detectaron mutaciones.

RESUMEN

Aurelio Álvarez Vargas — Fecha de Graduación: Agosto, 2001

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Facultad de Medicina

Título del Estudio:
DETECCIÓN MOLECULAR DE MUTACIONES EN GENES ASOCIADOS AL SÍNDROME DE DEFICIENCIA DE HORMONA DEL CRECIMIENTO HUMANO

Número de páginas: 75

Candidato para el grado de Maestría en Ciencias con especialidad en Biología Molecular e Ingeniería Genética

Área de Estudio: Ingeniería Genética

Propósito y Método del Estudio: La hormona del crecimiento humano (HGH) es un polipéptido de 191 aminoácidos y peso molecular de 22 kDa. La deficiencia de HGH durante la infancia se manifiesta con velocidad de crecimiento menor al 10% del normal ó curva de talla corta con desviación estándar > 2.5. Hasta el momento se han reconocido 2 clases de deficiencias de la hormona: aislada y combinada. En el presente proyecto se reclutó un grupo de pacientes con ambas clases de deficiencia de HGH con el propósito de determinar las causas de su padecimiento. Se planteó como objetivo principal el localizar mutaciones puntuales ó deleciones, tanto en la región promotora como en la región codificante del gen hGH-N. Asimismo, se planteó determinar las mutaciones que pudieran encontrarse en el gen que codifica para el receptor de la hormona (GHR), así como en los genes de los factores de trascripción que regulan la expresión de su gen, como son el Pit-1 y el Prophet-1. Para llevar a cabo la búsqueda de mutaciones en estos pacientes se aplicaron dos técnicas: el análisis de heterodúplex y/o el análisis de restricción según fuera el caso de la región del gen que se estuviera analizando. Luego, en caso necesario, cuando el fragmento amplificado fuera demasiado grande, se cortó con una enzima de restricción para producir fragmentos de tamaño adecuado. Finalmente, para analizar los sitios de cambios nucleotídicos se procedió a secuenciar dicha región.

Contribuciones y Conclusiones: De un total de 25 pacientes analizados, 11 resultaron positivos en la formación de heterodúplex, la totalidad de ellos fueron positivos para la región promotora del gen hGH-N. Se eligieron 4 de ellos (basándose en su migración electroforética) para secuenciación, resultando un total de 7 sitios distintos de cambios nucleotídicos en la secuencia del promotor; 6 de estos ya habían sido reportados como polimorfismos en esta región, en tanto que un cambio aún no ha sido reportado y se trata de una inserción de una adenina en la posición –64. Los 14 restantes resultaron negativos en la formación de heterodúplex. En conclusión todas las mutaciones detectadas en los pacientes analizados han sido reportadas como polimorfismos, pero no se puede excluir la posibilidad de que una combinación de ellas puedan en conjunto la expresión del gen hGH-N. Asimismo se estandarizaron las condiciones de amplificación de los exones de los genes: GHR, hGH-N, Pit-1y Prop-1 pero en ninguno de estos genes se detectaron mutaciones.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Hugo A. Barrera Saldaña

FIRMA DEL CO-DIRECTOR DE TESIS

Dr. Augusto Rojas Martínez