



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA
FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA
PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN PACIENTES CON
GLAUCOMA**

TESIS DE POSGRADO
que para obtener el diploma de especialidad en

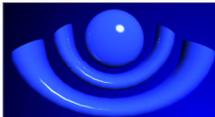
OFTALMOLOGÍA

Presenta la

DRA. CELIA ELIZONDO OLASCOAGA

DIRECTOR DE TESIS

DR. ANDRÉS MORALES GONZÁLEZ



México, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. ENRIQUE GRAUE WIECHERS

Profesor Titular del Curso

DR. ANDRÉS MORALES GONZÁLEZ

Director de Tesis

DRA. CLAUDIA MURILLO CORREA

Jefa de Enseñanza

ÍNDICE

I. Antecedentes	5
II. Objetivos	7
III. Metodología	8
IV. Resultados	12
V. Discusión	17
VI. Conclusiones	21
VII. Bibliografía	22

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA
PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN PACIENTES CON
GLAUCOMA**

I. ANTECEDENTES

Recientemente se ha analizado la participación del sistema inmune en el desarrollo y progresión de la neuropatía óptica glaucomatosa. Wax y cols han propuesto que una respuesta humoral aberrante puede estar involucrada en algunos pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto predominantemente en aquellos con glaucoma de presión normal ^{1,2}. Se han identificado niveles séricos elevados de diferentes autoanticuerpos en pacientes con glaucoma, en comparación con sujetos sanos, siendo los anticuerpos contra las proteínas de choque térmico de los más estudiados ³.

Las proteínas de choque térmico (hsp por sus siglas en inglés) son un grupo de proteínas altamente conservado que se expresan en las células bajo condiciones fisiológicas normales y de manera más importante en estados de estrés celular como calor, anoxia y exposición a citocinas. Estas proteínas facilitan la regeneración celular al participar en los eventos de maduración proteica como plegamiento o translocación a través de membranas. Asimismo, se les ha reconocido una actividad inmunorreguladora a nivel extracelular ⁴. Se han involucrado en la respuesta inmune innata debido a su unión con el complejo CD14-TLR4 de las células presentadoras de antígenos que produce un efecto proinflamatorio ⁵. A través de estudios de inmunotinción postmortem se detectó en ojos de pacientes con glaucoma una expresión aumentada de las proteínas de choque térmico de 60 y 27 kda en retina y cabeza del nervio óptico en comparación con ojos control ⁶.

Tezel y cols. han propuesto que la expresión aumentada de hsp en ojos glaucomatosos sirve inicialmente para protección contra la muerte celular pero que seguidamente el reclutamiento de la respuesta inmune ante estas proteínas altamente antigénicas contribuye a la progresión de la enfermedad ⁶. Estos autores demostraron experimentalmente que la aplicación de anticuerpos contra hsp27, proteína de bajo peso molecular, puede inducir la muerte neuronal por

apoptosis en las células retinianas al inactivar o atenuar la habilidad de la hsp27 de estabilizar el citoesqueleto celular así como influir en la activación de proteasas⁷. Se sugiere que los anticuerpos contra las hsp pueden ser causa directa en la muerte por apoptosis de las células ganglionares en el glaucoma⁸. Los títulos elevados de autoanticuerpos contra las hsp en muchos pacientes pueden representar una respuesta generalizada al daño tisular el cual posteriormente contribuye a la progresión de la enfermedad disminuyendo el papel protector inicial de este grupo de proteínas³.

Las hsp tienen un alto grado de homogeneidad en su secuencia entre las proteínas de origen bacteriano y las de los mamíferos (residuos idénticos hasta en un 60% en la familia de las hsp60). Se ha estimado que la reactividad ante estas proteínas puede suceder por el reconocimiento de los epítomos conservados o a través de mimetismo molecular⁴. La reactividad sérica a diversos tipos de hsp, por origen y peso molecular, se ha medido en diferentes poblaciones con glaucoma. Wax y cols determinaron los niveles séricos de anticuerpo contra hsp en población japonesa y estadounidense detectando altos niveles de anticuerpos circulantes en contra de la HSP60 en ambas poblaciones en comparación con un grupo control aunque sin evidenciar una correlación entre el daño morfométrico del nervio óptico y los niveles de anticuerpos séricos contra las diferentes proteínas⁹.

Con la finalidad de determinar en nuestra población los niveles séricos de anticuerpos contra las hsp en pacientes con glaucoma, se diseñó un estudio prospectivo utilizando las hsp bacterianas de 60kda de *Streptococcus pyogenes* (hsp60Sp) y *Escherichia coli* (hsp60Ec). Se midió la respuesta humoral sérica en grupos de pacientes con glaucoma crónico de ángulo abierto, glaucoma de presión normal y un grupo control de sujetos sanos analizando su relación con la presencia de la enfermedad y el daño campimétrico presentado por los pacientes.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de anticuerpos contra proteínas de choque térmico bacterianas de 60kDa en los sueros de pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Medir y comparar los niveles séricos de anticuerpo contra la HSP60 de *Streptococcus pyogenes* (HSP60Sp) y *Escherichia coli* (HSP60Ec) en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto (crónico de ángulo abierto y de tensión normal).
2. Relacionar los niveles de anticuerpos hacia la HSP60Sp y HSP60Ec con la presencia de la enfermedad.
3. Relacionar los niveles de anticuerpos de acuerdo al daño en la campimetría automatizada que presentan los pacientes.

III. METODOLOGÍA

Tipo de Estudio

Estudio prospectivo, transversal, comparativo y observacional.

Pacientes

Previo consentimiento informado por escrito, se incluyeron 65 pacientes divididos en tres grupos; 22 pacientes con glaucoma crónico de ángulo abierto, 21 pacientes con glaucoma de presión normal y 22 sujetos sanos. Los pacientes fueron seleccionados del Departamento de Glaucoma y Oftalmología Integral del Instituto de Oftalmología “Fundación Conde de Valenciana”.

Los criterios diagnósticos para glaucoma crónico de ángulo abierto (GCAA) fueron la presencia de ángulo iridocorneal abierto, evidencia de presión intraocular mayor de 21mmHg, cambios glaucomatosos en el nervio óptico y defectos campimétricos compatibles con glaucoma. El diagnóstico de glaucoma de tensión normal (GTN) se estableció con criterios similares para el GCAA excepto que la presión intraocular no se haya detectado mayor de 21 mmHg en las distintas mediciones en consultorio o en la curva horaria de presión intraocular de 24 horas. Se excluyeron aquellos pacientes con glaucoma de ángulo cerrado, evidencia de glaucoma secundario, trauma ocular, cualquier cirugía ocular previa, opacidad de cristalino, fotocoagulación panretiniana y/o falta de consentimiento por escrito.

El daño campimétrico por glaucoma se clasificó en leve, moderado y avanzado de acuerdo a los siguientes criterios ¹⁰: A) daño leve, no extenso ni cercano a la fijación, la desviación media (DM) menor a -6dB, en la gráfica de la desviación del modelo menos del 25% de los puntos deprimidos con $p < 5\%$ y menos de 10 puntos por debajo de 1% y en la gráfica de valores crudos ningún punto de los 5° centrales con sensibilidad menor a 15dB; B) daño moderado, DM menor a -12 dB, menos de 50% de puntos deprimidos con $p < 5\%$ y menos de 20 puntos debajo de 1%, ningún punto de 0 dB en los 5° centrales, solamente un

punto en un hemicampo con sensibilidad menor de 15 dB en los 5° de fijación; y C) daño avanzado, DM mayor a -12 dB, más de 50% de puntos deprimidos con $p < 5\%$ y más de 20 puntos debajo de 1%, uno o más puntos de 0 dB en los 5° centrales y uno o más puntos con sensibilidad menor de 15 dB en los 5° centrales en ambos hemicampos.

Se realizó toma de muestra sanguínea en vena periférica en todos los pacientes, colectando el suero y almacenándolo a -70°C hasta su utilización.

Clonación de los genes y purificación de las HSP60s bacterianas

El aislamiento de los genes se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando DNA genómico de las cepas bacterianas *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* e iniciadores específicos para estos genes (Figura 1, panel A). En el carril 1 se observa el producto de PCR correspondiente a dicho gen. Los productos amplificados fueron clonados en un vector [plásmido pProEXHT (Gibco)] como se muestra en el carril 2 y 3, obteniéndose el plásmido pHSP60Sp y el plásmido pHSP60Ec, respectivamente. El carril 4 es un marcador de pesos moleculares.

Las bacterias recombinantes se indujeron con IPTG para la inducción de la expresión de las HSPs y la purificación por cromatografía en columna. En la figura 1, panel B se observa en gel de poliacrilamida en el carril 1 el extracto proteico de la bacteria con el vector que tiene el gen sin la inducción de la expresión de la proteína. En el carril 2 se observa el extracto proteico una vez estimulado. Y en el carril 3 se muestra la purificación de la proteína recombinante de interés observándose una sola banda a la altura de 60Kda indicando un alto grado de purificación de la misma. Con la obtención de esta HSP60 Kda purificada se realizaron las pruebas de ELISA con los sueros de los pacientes estudiados.

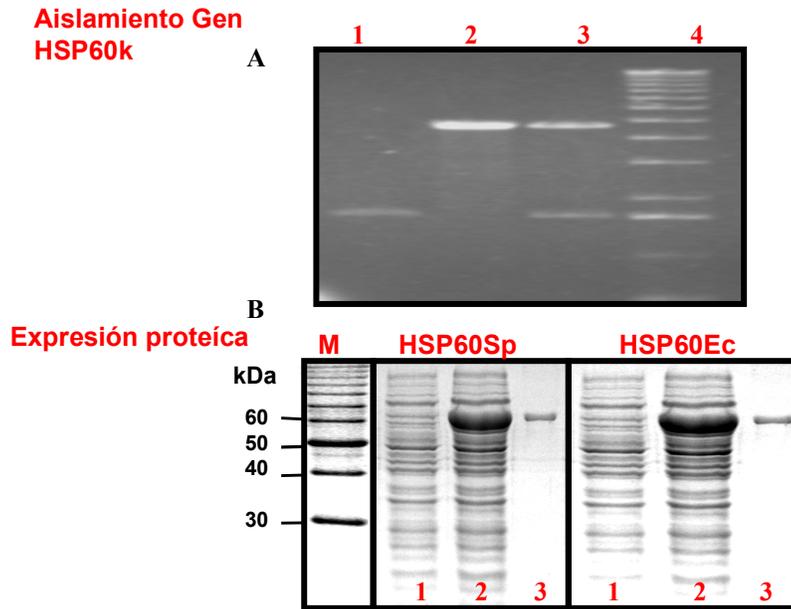


Figura 1. Clonación de la HSP60 bacteriana y su expresión

Ensayo Inmunoenzimático en fase sólida (ELISA)

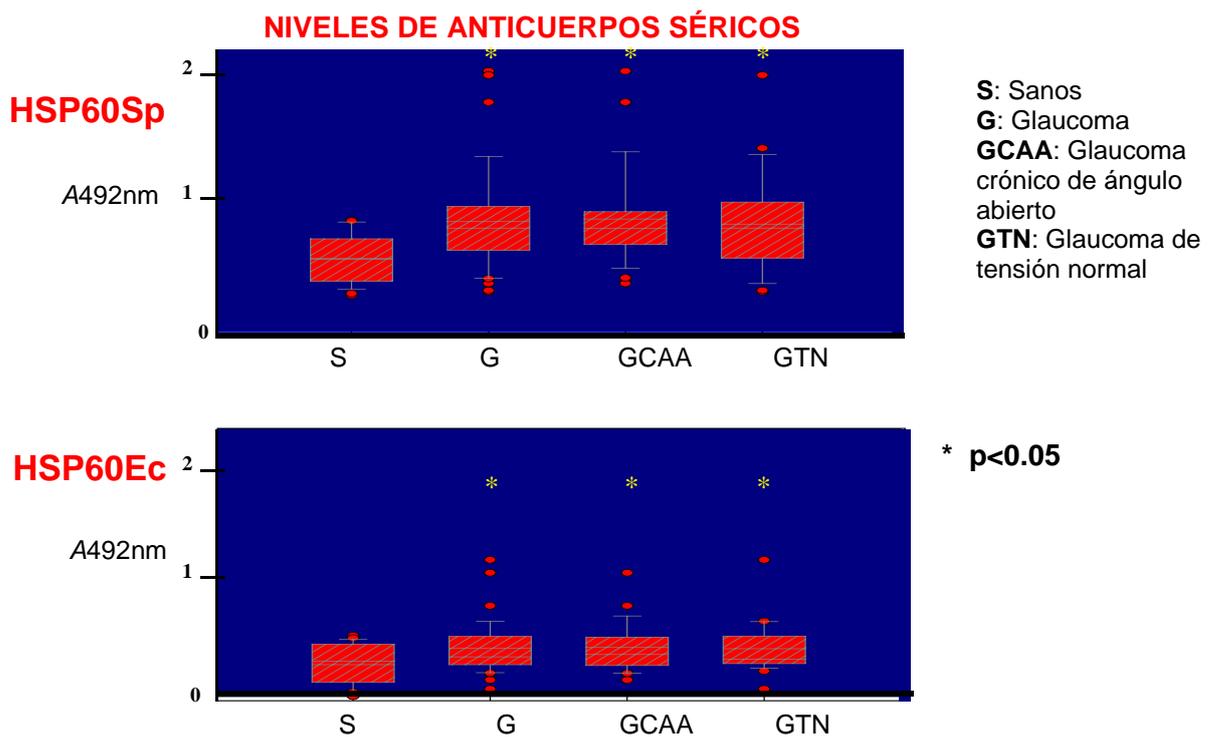
Una vez obtenidas las proteínas de choque térmico bacterianas, se efectuó radioinmunoensayo enzimático (ELISA) indirecto a cada muestra para determinar los niveles de anticuerpos séricos contra cada HSP60kDa. Se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos en los cuales se adhirieron, durante toda la noche a 4°C, 0.5 µg/ pozo de antígeno (HSP60Sp o HSP60Ec) en un volumen de 100 µL de amortiguador de carbonatos 0.1M pH 9.6. Como testigo de no antígeno, los pozos se forraron con 0.5 µg/ pozo de gelatina en un volumen de 100 µL de amortiguador de carbonatos 0.1M pH 9.6. Los pozos se lavaron tres veces con PBS-T al 0.05% para eliminar el exceso de antígeno. Después de bloquear una hora a 37°C con gelatina al 0.25% en PBS-T, los sueros problema se adicionaron por duplicado, diluidos 1:100 en PBS-T, y se incubaron una hora a 37°C. Después de siete lavados con PBS-T al 0.5% las placas se incubaron por una hora a 37°C con el conjugado de IgG de cabra anti-IgG humana-peroxidasa, diluido 1: 3000 en PBS-T. Después de siete lavados con PBS-T, se agregó la solución del sustrato

junto con el cromógeno (H_2O_2 al 0.1% y o-fenildiamina 0.4 mg/mL, en regulador de citratos, pH 5). Se detuvo la reacción con 50 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4 8N) y los resultados se analizaron en un lector de ELISA a 492 $_{\text{nm}}$.

Una vez obtenidos los niveles séricos de los diferentes grupos de estudio, se efectuó análisis estadístico con prueba t student para la comparación entre los mismos y con la relación de momios para determinar la asociación de los niveles de anticuerpos y la enfermedad así como su relación con la presencia de daño campimétrico.

IV. RESULTADOS

Los niveles séricos de anticuerpo contra HSP60Sp y HSP60Ec detectados en los diferentes grupos de estudio se muestran en las gráficas 1 y 2. Se expresan las medias de las lecturas ópticas obtenidas del análisis de radioinmunoensayo en cada grupo con su respectiva desviación estándar. Se encontró que los valores en los grupos con glaucoma fueron mayores que en el grupo control con una diferencia estadísticamente significativa para ambas proteínas (HSP60Sp $p=0.002$ y HSP60Ec $p=0.01$).



Gráfica 1 y 2. Niveles de anticuerpo contra HSP60Sp y Ec en pacientes con glaucoma

Para cada uno de los grupos de glaucoma (GCAA y GTN) se observaron títulos de anticuerpos más elevados contra ambas HSP60 al compararlos con el grupo de sujetos sanos con diferencia estadísticamente significativa (GCAA: HSP60Sp $p=0.002$ y HSP60Ec $p=0.016$; GTN: HSP60Sp $p=0.007$ y HSP60Ec $p=0.031$). Es de mencionar que los títulos mayores se observaron con la HSP60Sp en los grupos estudiados; sin embargo, cuando se compararon los niveles de anticuerpos entre los dos grupos de glaucoma (GCAA vs GTN) no se detectaron diferencias significativas para ninguna de las dos proteínas de choque térmico (HSP60Sp $p=0.746$ y HSP60Ec $p=0.874$).

Para determinar el grado de asociación entre la respuesta inmune humoral a las HSP60 y la presencia de glaucoma en los pacientes, se calculó la relación de momios. Primeramente se dividieron todos los pacientes en dos grupos. Un grupo se denominó nivel de anticuerpo positivo y el otro grupo como nivel de anticuerpo negativo. Se consideró un nivel de anticuerpo positivo al valor de absorbencia a 492nm por arriba del valor de corte y un nivel de anticuerpos negativo por debajo de este valor. El valor de corte fue calculado considerando la media de la absorbencia a 492nm de los sujetos sanos más una desviación estándar para su correspondiente HSP estudiada. Para la HSP60Sp el valor de corte fue de 0.75 y para la HSP60Ec fue de 0.32.

En ambos grupos de glaucoma se observó una mayor proporción de pacientes con relación positiva entre la presencia de los anticuerpos y la enfermedad en comparación con el grupo control aunque solamente para la HSP60 de *Streptococcus pyogenes* (Tabla 1). La HSP60Ec no presentó asociación estadísticamente significativa con ninguno de los grupos de glaucoma estudiados. (Tabla 2).

HSP60Sp

	Niveles de anticuerpos positivos (%)	Niveles de anticuerpos negativos (%)	Relación de Momios (RM)	Límite inferior	Límite superior	Diferencial (p<0.05)
Glaucoma	60.5	39.5	5.2	1.6	16.7	Si
GCAA	68.2	31.8	7.3	1.9	27.9	Sí
GTN	57.2	42.8	4.5	1.2	16.9	Sí
Sanos	22.7	77.3	---	----	----	----

Tabla 1. Asociación entre niveles de anticuerpos séricos contra HSP60Sp y pacientes con glaucoma

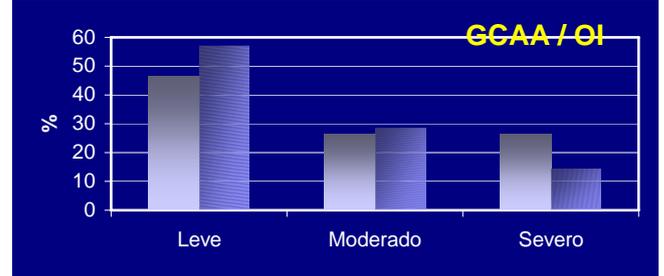
HSP60Ec

	Niveles de anticuerpos positivos (%)	Niveles de anticuerpos negativos (%)	Relación de Momios (RM)	Límite inferior	Límite superior	Diferencial (p<0.05)
Glaucoma	46.5	53.5	1.8	0.63	5.4	No
GCAA	50	50	2.1	0.62	7.3	No
GTN	42.8	57.2	1.6	0.46	5.58	No
Sanos	31.8	68.2	---	----	----	----

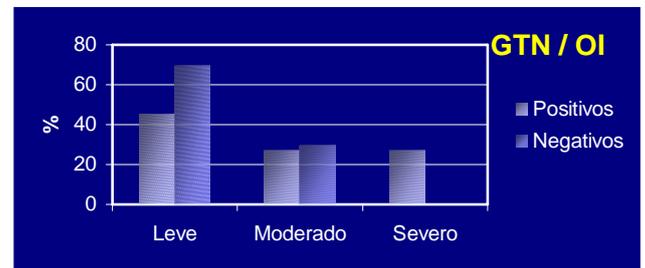
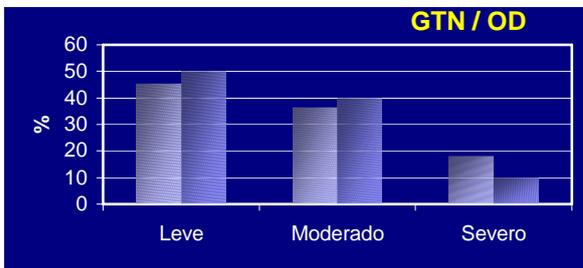
Tabla 2. Asociación entre niveles de anticuerpos séricos contra HSP60Ec y pacientes con glaucoma

En los pacientes que presentaron una relación positiva de la enfermedad y los anticuerpos séricos contra las HSP60 se investigó una asociación entre el nivel de esos anticuerpos y el daño campimétrico por glaucoma (Gráficas 3-10). En el grupo de GCAA se encontró que los mayores niveles séricos contra ambas HSP60 bacterianas se presentaban en los pacientes con un daño campimétrico leve en ambos ojos seguidos por los de daño moderado y avanzado (Gráficas 3-4, 7-8).

HSP60Sp

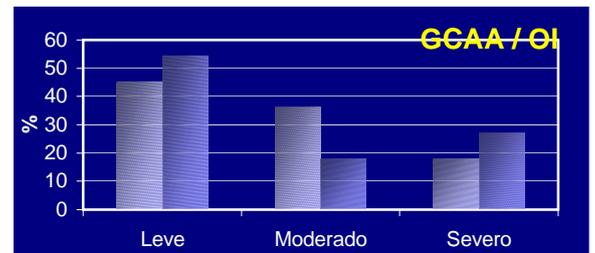
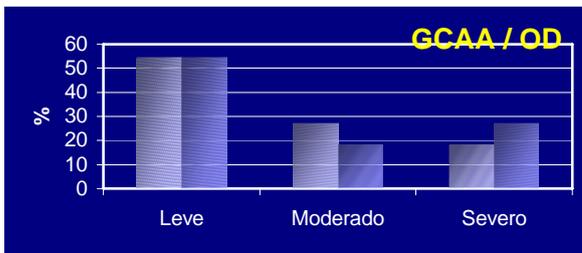


Gráficas 3 y 4. Porcentaje de pacientes con GCAA (OD y OI) y relación positiva con Ac vs HSP60Sp según daño campimétrico.

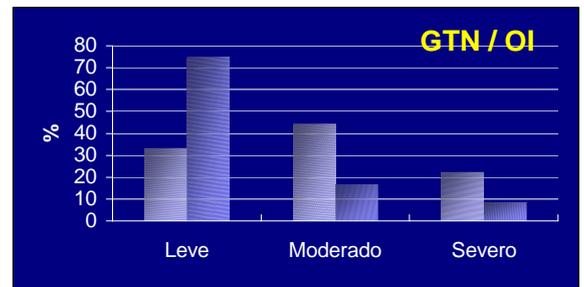
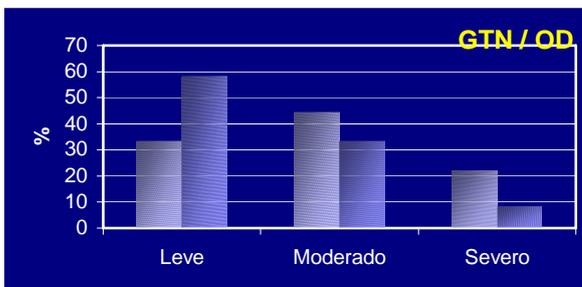


Gráficas 5 y 6. Porcentaje de pacientes con GTN (OD y OI) y relación positiva con Ac vs HSP60Sp según daño campimétrico.

HSP60Ec



Gráficas 7 y 8. Porcentaje de pacientes con GCAA (OD y OI) y relación positiva con Ac vs HSP60Ec según daño campimétrico.



Gráficas 9 y 10. Porcentaje de pacientes con GTN (OD y OI) y relación positiva con Ac vs HSP60Ec según daño campimétrico.

En el grupo de GTN los niveles de anticuerpos séricos contra la HSP60Sp fueron mayores en los pacientes con daño campimétrico leve en ambos ojos (gráficas 5 y 6) y los niveles contra HSP60Ec en los pacientes con daño moderado en ambos ojos (Gráficas 9 y 10). En estos resultados, se observó que el grado de daño campimétrico que presentaban los pacientes en ambos tipos de glaucoma no se correlacionó de manera lineal con los niveles de anticuerpos séricos encontrados.

V. DISCUSIÓN

La respuesta humoral con anticuerpos tipo IgG a las proteínas de choque térmico de 60kd de origen bacteriano se detectó aumentada en los grupos de pacientes con glaucoma aquí estudiados. Las proteínas de choque térmico, descritas desde 1974, son un grupo de proteínas filogenéticamente conservado que se expresan en todas las especies y que por varios años se pensó eran solo moléculas intracelulares con funciones citoprotectoras que solo se liberaban durante la necrosis celular ^{4,11}. Actualmente se reconoce que estas moléculas tienen múltiples actividades inmunorreguladoras a nivel extracelular y que la respuesta del organismo ante su expresión es una respuesta fisiológica que regula el desarrollo y progresión de la inmunidad proinflamatoria.

Las HSP se clasifican en familias de acuerdo a su peso molecular como son de 90kd, 70kd, 60kd y las pequeñas de 25 a 30kd. En esta investigación se han utilizado proteínas de 60dk de origen bacteriano. Se ha reconocido que éstas conservan una homogeneidad hasta del 60% con las hsp de los mamíferos (residuos idénticos). La reacción sérica a este tipo de proteínas, se ha supuesto, podría producirse por un reconocimiento de esas regiones conservadas (epítomos) o como reacción cruzada (mimetismo molecular) ⁴. Las hsp se han identificado como moléculas altamente antigénicas y la respuesta inmune ante ellas puede tener un potencial protector y patogénico ¹².

El interés de algunos autores en determinar una relación entre la respuesta inmune y la neuropatía óptica glaucomatosa se fundamenta inicialmente en encontrar diferentes mecanismos de daño neuronal en pacientes con glaucoma. Cartwright y cols. reportaron una asociación epidemiológica de enfermedades inmunorrelacionadas en 30% de pacientes con glaucoma de tensión normal en un estudio de casos y controles ¹³. Se ha buscado la presencia de autoantígenos en retina y nervio óptico que desencadenen una alteración en la tolerancia inmunológica en los pacientes con glaucoma. La expresión de las HSP en

pacientes y modelos animales con glaucoma se ha documentado en varios estudios ^{6,14-17}.

Wax y cols han acumulado evidencia de que las HSP se encuentran entre los autoantígenos más significativos en los pacientes con glaucoma ¹. Tezel y cols. determinaron, a través de inmunotinción de cortes histológicos en ojos postmortem de pacientes con glaucoma, que las HSP60 se expresan en mayor proporción en las células ganglionares, fotorreceptores y células astrogiales de la lámina cribosa del nervio óptico en comparación con ojos postmortem de pacientes sin glaucoma. Al igual encontraron que existe mayor expresión de HSP27 en la cabeza del nervio óptico y de los vasos retinianos ⁶.

La relación entre el glaucoma y las HSP se encuentra fundamentada por la conocida expresión de estas proteínas en situaciones de isquemia la cual, ya sea de manera global o focal, esta presente en los pacientes con glaucoma por una perfusión vascular disminuida ¹⁸. La expresión de estas proteínas contribuye a la protección para la supervivencia celular. Pero ¿en qué momento la expresión repetida de las HSP puede perpetuar la progresión de esta neuropatía? Tezel y cols suponen una pérdida de la tolerancia inmunológica en los pacientes con glaucoma. Al ser estimuladas las células gliales –que se sabe son células presentadoras de antígenos en retina y nervio óptico- convierten a éstas moléculas en antígenos que desencadenan la producción de autoanticuerpos que a su vez inactivan la función inicial de las HSP en la protección contra la apoptosis⁶.

En modelos experimentales de glaucoma se ha documentado que la muerte neuronal es por apoptosis ¹⁹ tanto en glaucoma crónico de ángulo abierto como en el de presión normal; sin embargo, lo que es hipotético es cómo se producen los autoanticuerpos contra antígenos retinianos que provoquen apoptosis ⁸. Es reconocido que los pacientes con glaucoma presentan títulos elevados de anticuerpos contra HSP comparados con sujetos sanos ⁹. Asimismo, que los

autoanticuerpos pueden entrar a las células vivas y alterar su función (provocar apoptosis)²⁰. Según estudios de inmunotinción,⁸ se ha sugerido la unión externa de los anticuerpos, su internalización mediante endocitosis y la siguiente unión intracelular. Se ha detectado específicamente con anticuerpos contra HSP27 la inactivación de esta proteína para estabilizar el citoesqueleto de la célula y la activación también de proteasas celulares⁷.

En los diversos estudios, así como en la presente investigación, se observó que la respuesta ante la expresión de las HSP se produce tanto en los pacientes con glaucoma de presión normal como en aquellos que se documentó presión intraocular elevada. Se ha considerado, por tanto, que los títulos mayores de anticuerpos contra HSP no son dependientes del nivel de presión intraocular exclusivamente^{9,16,21}.

La detección de niveles elevados de anticuerpos contra proteínas de choque térmico en pacientes con glaucoma, y de acuerdo a los resultados de los experimentos ex vivo referidos, hace suponer una relación entre estas moléculas y la enfermedad. En este estudio se determinó la asociación entre los niveles séricos elevados de anticuerpos contra las hsp60 y la presencia de glaucoma a través de la relación de momios. Se evaluó en aquellos que presentaban un nivel de anticuerpo positivo y se observó que existía asociación solo para la hsp60 de *Streptococcus pyogenes* y no así para la *Escherichia coli*. Lo anterior podría indicar que existe diferencia de respuesta entre los diferentes orígenes de la hsp (entre gram positivo y gram negativo). Esta diferencia fue observada en los pacientes con uveítis, en que se encontró nivel más alto de anticuerpo contra la hsp60 de *Yersinia enterocolitica* que con otras hsp de diferentes bacterias como *E. coli*, *S. pyogenes*, *S. flexneri* y *K. pneumoniae*²². Posiblemente esto represente una cierta especificidad hacia la hsp60Sp en comparación con la hsp60Ec; sin embargo, lo anterior no puede ser aclarado con la información actual.

En este estudio no se documentó una relación entre el nivel de anticuerpos séricos y la estadificación del daño campimétrico en los pacientes estudiados. De igual manera, Wax y cols no detectaron una asociación entre los parámetros morfométricos del nervio óptico y los niveles de anticuerpos en población estadounidense y japonesa ⁹.

El análisis del daño campimétrico fue realizado solo en aquellos pacientes con una relación positiva entre nivel de anticuerpos y glaucoma. No se obtuvo el mismo número de pacientes en cada grupo de severidad del daño debido a que el grado de alteración campimétrica no fue el criterio de selección de los pacientes sino que de los pacientes reclutados se clasificó el daño campimétrico que presentaban. El que el mayor número de pacientes en este estudio con un nivel de anticuerpos positivos presenten daño campimétrico leve y moderado puede encontrarse en relación con el criterio de selección más que con que el nivel mayor de anticuerpos se presente en las primeras etapas de la enfermedad. Se debe considerar, en primera instancia, que el daño establecido en la campimetría blanco blanco se puede presentar tarde a la lesión estructural del nervio óptico. Así que un daño campimétrico leve no forzosamente indica lesión estructural del mismo grado. ¿Se puede determinar, por tanto, en qué momento de la relación enfermedad y nivel de anticuerpos positivos se deberían encontrar más elevados, si desempeña una función inicial en el proceso inmunológico o perpetúa la lesión glaucomatosa? Esto aún no puede ser contestado. Se sugiere, para investigaciones futuras, la evaluación con estudios que incluyan análisis del daño estructural del nervio óptico que puede presentarse antes del daño campimétrico.

VI. CONCLUSIONES

1. Los grupos de pacientes mexicanos con glaucoma crónico de ángulo abierto y de presión normal estudiados presentan niveles mayores de anticuerpos séricos contra proteínas bacterianas de choque térmico en comparación con el grupo control de sujetos sanos.
2. Solamente la HSP60Sp presentó asociación con la enfermedad. Se observó una mayor proporción de pacientes con relación positiva entre la presencia de los anticuerpos y la enfermedad en comparación con el grupo control aunque solamente para la HSP60 de *Streptococcus pyogenes*.
3. No se determinó relación de los niveles de anticuerpos con el daño glaucomatoso evaluado en la campimetría automatizada.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Wax MB, Tezel G, Saito I, et al. Anti-Ro/SS-A positivity and heat shock protein antibodies in patients with normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 1998;125:145-157.
2. Wax MB. Is there a role for the immune system in glaucomatous optic neuropathy? *Curr Opin Ophthalmol*. 2000;11:145-150.
3. Wax MB, Yang J, Tezel G. Serum autoantibodies in patients with glaucoma. *J Glaucoma*. 2001;10(Suppl 1):S22-S24.
4. Pockley G. Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents? Expert reviews in molecular medicine. Fuente: [URL:http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk](http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk)
5. Kol A, Lichtman AH, Finberg RW, et al. Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. *J Immunol* 2000;164:13–17.
6. Tezel G, Hernández R, Wax MB. Immunostaining of heat shock proteins in the retina and optic nerve head of normal and glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 2000 Apr;118(4):511-8.
7. Tezel G, Wax MB. The mechanisms of hsp27 antibody-mediated apoptosis in retinal neuronal cells. *J Neurosci* 2000 May 15;20(10):3552-62.
8. Tezel G, Seigel GM, Wax MB. Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 Nov;39(12):2277-87.
9. Wax M, Tezel G, Kawase K. Serum autoantibodies to heat shock proteins in glaucoma patients from Japan and the United States. *Ophthalmology*. 2001;108:296-302.
10. Hodapp E, Parrish II, RK, Anderson DR. Follow-up of primary open-angle glaucoma. En: *Clinical Decisions in Glaucoma*. Mosby, St. Louis, 1993; pp 84-126.
11. Nicchitta CV. Re-evaluating the role of heat shock protein-peptide interactions in tumour immunity. *Immunology* 2003 May;3:427-432.

12. Young RA, Elliott TJ. Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell* 1989;59:5-8.
13. Cartwright MJ, Grajewski AL, Friedberg ML, et al. Immune-related disease and normal-tension glaucoma. A case-control study. *Arch Ophthalmol* 1992;110:500-2.
14. Sakai M, Sakai H, Nakamura Y. Immunolocalization of heat shock proteins in the retina of normal monkey eyes and monkey eyes with laser-induced glaucoma. *Jpn J Ophthol* 2003 Jan-Feb;47(1):42-52.
15. Salvador-Silva M, Ricard CS, Agapova OA. Expression of small heat shock proteins and intermediate filaments in the human optic nerve head astrocytes exposed to elevated hydrostatic pressure in vitro. *J Neurosci Res* 2001 Oct ;66(1):59-73.
16. Lutjen-Drecoll E, May CA, Polansky JR. Localization of the stress proteins alpha B-crystallin and trabecular meshwork inducible glucocorticoid response protein in normal and glaucomatous trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 Mar;39(3):517-25.
17. Tamm ER, Russell P, Johnson OH. Human and monkey trabecular meshwork accumulate alpha B-crystallin in response to heat shock and oxidative stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996 Nov;37(12):2402-13.
18. Schett G, Xu Q, Amberger A, et al. Autoantibodies against hsp60 mediates endothelial cytotoxicity. *J Clin Invest* 1995;96:2569-2577.
19. Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, et al. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:774-786.
20. Alarcon-Segovia D, Ruiz-Argüelles A, Llorente L. Broken dogma: penetration of autoantibodies into living cells. *Immunol Today* 1996;17:163-164.
21. Park K, Cozier F, Ong O, et al. Induction of heat shock proteins 72 protects retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1522-1530.

22. Cancino-Diaz JC, Vargas-Rodriguez L, Cancino-Diaz ME, et al. High levels of IgG class antibodies to recombinant HSP60 kDa of *Yersinia enterocolitica* in sera of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 2004;88:247-250.