

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

SECRETARIA DE SALUD

**“ANALISIS MOLECULAR DEL GENE TIGR/MYOC EN UNA
MUESTRA DE PACIENTES CON GLAUCOMA SECUNDARIO A
ESTEROIDES.”**

**TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TITULO EN LA
ESPECIALIDAD DE OFTALMOLOGÍA**

AUTOR: DRA. LAURA MELISSA PRIETO ORTIZ

TUTOR: DRA. SILVIA FANNY LARA HUERTA

ASESORES: DR. JUAN IGNACIO BABAYAN MENA

DR. SERGIO ALBERTO CUEVAS COVARRUBIAS

DRA. LUZ MARIA GONZALEZ HUERTA

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESPONSABLE

Dra. Laura Melissa Prieto Ortiz
Médico Residente
Servicio de Oftalmología del Hospital General de México

Firma

TUTOR DE TESIS

Dra. Silvia Fanny Lara Huerta
Jefe de Servicio de la Clínica de Glaucoma
Servicio de Oftalmología
Hospital General de México

Firma

Dr. Anselmo Fonte Vázquez
Jefe de Servicio, Jefe de Enseñanza
Servicio de Oftalmología
Hospital General de México

Firma

INDICE

Resumen.....	1
Antecedentes.....	2
Justificación.....	9
Planteamiento del Problema.....	10
Objetivo	11
Sujetos y Métodos.....	12
Resultados	15
Discusión.....	20
Conclusiones.....	24
Anexo I Tablas.....	27
Anexo II Gráficos.....	29

RESUMEN

El glaucoma secundario a esteroides, es causado por la administración de esteroides en sus distintas formas, tópicos o sistémicos. Se sabe que después de una administración prolongada de dicho medicamento se produce glaucoma, el cual se presenta con cifras de tensión intraocular mayores de 35 mmHg, además de causar daño al nervio óptico.

Se ha observado que algunos pacientes con este tipo de glaucoma, tienen antecedente familiar de glaucoma de ángulo abierto, lo que indica que los pacientes tienen una predisposición genética importante. En los últimos años se han descubierto genes que codifican para el glaucoma de ángulo abierto, como lo es el gen TIGR o de la miocilina (MYOC), sin embargo, aun, no se logra descubrir por completo como es que este gen actúa en dicha enfermedad.

Se ha visto que el TIGR tiene una mutación muy común entre las razas el cual es el Gln368STOP, esta mutación esta presente en pacientes con glaucoma, aunque a la fecha no se ha logrado descifrar de que manera afecta y si es posible prevenir dicha enfermedad.

En el presente trabajo se incluyeron 29 pacientes con diagnóstico de glaucoma secundario a esteroides, con edades entre 35 y 77 años, con una media de 63.5, sin importar el tiempo de evolución de la enfermedad. Se extrajo sangre venosa periférica, la cual, fue analizada por el servicio de genética del Hospital General de México, mediante la prueba de PCR, obteniéndose de esta forma los resultados. Se encontraron 5 polimorfismos en los nucleótidos 76,85, 96,196 lo que nos indica que no hubo mutación de dicho gen, por lo que se sugiere una muestra mas grande para poder buscar la mutación mas común dentro de la población mexicana.

ANTECEDENTES.

El glaucoma es un grupo de enfermedades que se caracteriza por una degeneración del nervio óptico, usualmente acompañado por la elevación de la presión intraocular lo que conlleva un factor de riesgo mayor para la progresión del daño glaucomatoso. Esta enfermedad afecta a más de 200 millones de personas alrededor del mundo. (1)

El glaucoma puede presentarse en diferentes edades y lo podemos dividir como primario y secundario, el primario no se asocia a alteraciones del ángulo irido-corneal, mientras que el secundario se debe a alteraciones del ángulo, enfermedades sistémicas, traumatismos o inflamaciones.(1)

La elevación de la presión intraocular puede ocurrir como consecuencia de la terapia esteroidea sin importar la forma de administración ya sea oral, intravenosa, inhalada, tópica, periocular o intravítrea; si esta eventualidad no se reconoce a tiempo y se implementa el tratamiento apropiado, puede desarrollarse glaucoma (1,2).

La hipertensión intraocular inducida por esteroides fue reportada por primera vez en 1950 por McLean quien presentó un caso de incremento de la presión intraocular secundario a la administración de hormona adrenocorticotropa (ACTH), pero no fue sino hasta 4 años después que se reporto el primer caso de aumento de la presión intraocular secundario a la administración de cortisona local. (2)

Cuando se da tratamiento tópico con esteroides por 4 a 6 semanas se ha encontrado que el 5% de la población general presenta un aumento de la tensión ocular mayor de 16 mmHg y un 30 % presenta un aumento de entre 6 a 15 mmHg (1,2).

En un estudio realizado por Becker y Mills donde a pacientes con sospecha de glaucoma y glaucoma ya diagnosticado se les administraba betametasona al 0.1%, por 2 a 4 semanas mostraban un incremento significativo de la tensión intraocular, misma que regresaba a condiciones normales una semana después de discontinuar el medicamento (2).

Se ha visto que pacientes de la tercera edad y niños, principalmente menores de 6 años tienen una mayor predisposición a ser hiper-reactores a esteroides, en un estudio que demuestra que el 71% y el 59% de niños que recibieron tratamiento tópico con dexametasona al 0.1% 4 veces al día y 2 veces al día respectivamente presentaban un incremento en la tensión intraocular mayor de 21 mmHg. (2, 3, 4). También se ha observado que personas con enfermedades del tejido conectivo, Diabetes Mellitus tipo 1, miopía elevada, presentan un riesgo mayor de glaucoma secundario a esteroides. (5, 6,7)

El mecanismo por el cual los esteroides inducen hipertensión ocular se debe al incremento en la resistencia al flujo de salida del humor acuoso. Existen múltiples observaciones que pueden simplificarse en tres grandes categorías (8):

- 1) Los corticoesteroides inducen cambios tanto físicos como mecánicos en la microestructura de la malla trabecular, que causa un aumento en los depósitos de sustancias en el trabéculo y disminuye el flujo de salida.
- 2) Incremento en el depósito de matriz extracelular en el trabéculo que lleva a una disminución del flujo.
- 3) La facilidad del flujo de salida disminuye por una reducción en la actividad de las proteasas y la acción de fagocitosis de las células endoteliales de la malla trabecular, disminuyendo la eliminación de sustancias en la misma. (9,10)

Durante muchos años el glaucoma ha tenido grandes interrogantes en cuanto a la causa de su desarrollo, cuál es su mejor tratamiento y cómo prevenirlo.

En los últimos años el genoma humano ha sido estudiado ampliamente, se ha visto que tiene tres billones de pares de bases y se conocen alrededor de 30.000 genes (10), en relación al glaucoma se han identificado genes y locus en los cuales probablemente se encuentra el gen definitivo de la enfermedad (10,11).

Hace 15 años era una promesa encontrar el gen del glaucoma primario para poder llegar a un mejor entendimiento de su fisiopatología y posible solución.

En 1993 se publicó el primer locus relacionado con el glaucoma de ángulo abierto, el gen de la miocilina, descrita como una proteína mayor llamada TIGR (trabecular meshwork-inducible glucocorticoid response) (12,13)

El **TIGR/MYOC** codifica una proteína de 504 aminoácidos, con un peso molecular de aproximadamente 55 a 57 kD con un punto isoelectrico de 5.2. En

el ojo el **TIGR/MYOC** se presenta en la malla trabecular, y en otras estructuras como la retina, cuerpo ciliar, esclerótica, coroides, córnea e iris. (13)

Este gen se identificó inicialmente en cultivos de células de la malla trabecular incubados con corticoesteroides (dexametasona), y se comparó con un grupo control sin corticoide, y se observó la formación de un material proteico/glucoproteico en el grupo con corticoide, por lo que se asoció a la mutación genética en el material proteico que producía obstrucción de la salida del humor acuoso y la consecuente elevación de la tensión intraocular. (13), al mismo tiempo en Japón descubrieron el gen de la miocilina en los cilios conectores de los fotorreceptores por lo que se decidió ponerle al gen **TIGR/MYOC o GLC1A** (14)

Este gen se ha asociado con el glaucoma secundario a esteroides, se localiza en el aparato de Golgi en las células endoteliales del canal de Schlemm, que produce una obstrucción no sólo en el pasaje por el trabéculo, sino también al atravesar las células endoteliales del canal de Schlemm. (14)

Se observó que los esteroides pueden estimular importantemente el gen **MYOC** expresándose en las células de la malla trabecular, por esto es importante examinar el rol de la miocilina en la hipertensión intraocular inducida por esteroides. (15)

Sin embargo, existen varios autores que reportan que no hay una evidencia firme que confirme que el gen de **TIGR/MYOC** está involucrado con la

estructura y los cambios funcionales de esta enfermedad. (15), se sugiere que la miocilina es un proteína de estrés y reportes recientes concluyen que este gen se expresa en la malla trabecular de pacientes con diferentes tipos de glaucoma (15)

Por otro lado, la inducción de la proteína en los cultivos de células de la malla trabecular con dexametasona es inusual en varios aspectos, primero, las proteínas aparecen en las células de la malla trabecular solo después de 7 a 10 días de tratamiento con dexametasona, segundo, la concentración media efectiva de la dexametasona induce una expresión de esta proteína en la malla trabecular aproximadamente 10 veces mas alta que la afinidad de la dexametasona por el receptor de glucocorticoides en la malla trabecular, lo que nos indica que aunque esto es in vitro existe una relación muy estrecha del gen **MYOC** con la hipertensión inducida por corticoides in vivo, entendienddo que representa un factor involucrado importantemente en la hipertensión ocular. (16)

El mayor reto va a ser determinar la función de la miocilina en la malla trabecular y determinar cual es el papel de la miocilina en la patogenia del proceso, aunque exista evidencia de la expresión de la miocilina en el tejido del trabéculo cuando hay una hipertensión ocular inducida por esteroides.

(16, 17,18, 19)

JUSTIFICACIÓN

Ya que el glaucoma secundario a esteroides es una enfermedad iatrogénica, y debido a que la biología molecular ha descubierto que el gen TIGR/MYOC esta presente en pacientes con glaucoma, y sabiendo que es una enfermedad progresiva, se realizo el presente estudio para saber si existe alguna mutación del mismo y de esta forma poder prevenir la aparición del mismo y saber si hay predisposición para evitar la progresión de la enfermedad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Buscar si existe alguna mutación del gen TIGR/MYOC en pacientes con glaucoma secundario a esteroides y de esta forma poder evitar de alguna forma la progresión de la enfermedad o prevenir la misma.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar si el gen **TIGR/MYOC** se encuentra en pacientes con glaucoma secundario a esteroides, y si este gen representa una predisposición para desarrollarlo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- A) Evaluar la presencia o mutación del gen TIGR/MYOC en pacientes glaucoma secundario a esteroides.

SUJETOS Y METODO

1.- Tipo de estudio: Se realizó un estudio, transversal, prospectivo, en pacientes con glaucoma secundario a esteroides. En un periodo de julio 2006 a julio de 2007.

2.- Población: Se tiene una muestra de 29 pacientes con el diagnóstico ya establecido de glaucoma secundario a esteroides, procedentes de la consulta externa del Servicio de Oftalmología del Hospital General de México.

MATERIAL Y METODOS:

Selección de sujetos de estudio:

29 pacientes con glaucoma secundario a esteroides

1) Criterios de Inclusión:

Se incluyeron pacientes sin importar sexo y edad.

Con el diagnóstico de glaucoma secundario a esteroides.

Sin importar tiempo de evolución.

2) Criterios de Exclusión:

Aquellos pacientes que no quisieran participar en el estudio.

Con antecedentes de enfermedad inflamatoria ocular

Pacientes con cualquier tipo de cirugía previa

Con traumatismos previos

3) Variables analizadas:

Toma de muestra de sangre periférica para determinar el gen TIGR/MYOC, en pacientes con diagnóstico de glaucoma secundario a esteroides

4) Descripción de la Técnica:

Se tomo una muestra de sangre periférica (10 ml) a pacientes con diagnóstico de glaucoma secundario a esteroides, en un tubo con EDTA, posteriormente se etiquetaban correctamente con los datos del paciente (nombre completo, edad, expediente clínico y fecha de la toma), la muestra fue remitida al Servicio de Genética, donde era refrigerada para su posterior análisis.

El análisis genético se hizo mediante la técnica de PCR, la cual por medio del método salino se obtuvieron las muestras de DNA de los pacientes para posteriormente amplificar los extremos 5' y 3" del gen *TIGR* y regiones flanqueadoras con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con la siguiente mezcla de reacción:

Agua desionizada, Buffer 1X dNTP's con una concentración de 0.6 mM de cada uno, 0.5 mM de cada *primer*, MgCl₂ 3 mM, dos unidades de Taq polimerasa y la muestra de DNA problema. Trabajando con un volumen final de 25 microlit. Las muestras se sometieron a 94°C por 5 min, 30 ciclos 94 °C, 68° C 2 min y 72 °C por 3 min, con la finalidad de amplificar los exones 1-10 del gen *TIGR*, usando el termociclador *Perkin Elmer*. Posteriormente se realizó una electrofóresis en gel de agarosa al 1.5 %.

5. RECOLECCIÓN DE DATOS:

Se utilizó una hoja de Microsoft Excel para la recolección de la información, luego creamos una base de datos en Microsoft Access para el análisis de los resultados, expresando los mismos en porcentaje.

RESULTADOS

Se incluyeron 29 pacientes mexicanos con el diagnóstico ya establecido de glaucoma secundario a esteroides, 17 mujeres (58.6%) y 12 hombres (41.3%) (tabla1), los cuales comprendían edades de entre 35 a 77 años con una media de 63.5. (tabla 2).

En el estudio genético realizado mediante la prueba de PCR se busco si en el gen TIGR/MYOC existía alguna mutación la cual nos pudiera ayudar a saber si los pacientes ya tenían una predisposición a dicha enfermedad.

Encontramos que existían polimorfismos en la población estudiada. Hay que recordar que el 1% de la población presentan polimorfismo, actualmente existen aproximadamente 32 polimorfismos, de estos nosotros encontramos únicamente 5, es decir un cambio únicamente de un aminoácido por otro, en la secuencia de los nucleótidos.

Esto se corrobora con una muestra control de 50 pacientes es decir, pacientes sanos, que vendría siendo el gen silvestre o el WT, mientras que el heterocigoto HT no reporto ningún cambio. Figura 1

Los polimorfismos que encontramos fueron en los nucleótidos número 76,85, 96,196, donde se observan los cambios de aminoácidos.

Siendo los cambios mas comunes en el 76 una arginina por una lisina, en el 85 no hubo cambio quedo leucina por leucina, 96 se cambio Glutámico por Glicina y en el nucleótido 196 hubo un cambio de Prolina por glutamina. Figura 2

Esto nos indica que aunque hubo polimorfismos, no fueron significativos para poder llegar a tener una mutación de dicho gen.

Esto se observó en los electroferogramas realizados a los pacientes, de esta forma comprobamos los polimorfismos en las secuencias antes señaladas figura 3.

Por lo que es evidente que se tiene que aumentar la muestra para poder ver si hay más polimorfismos y al mismo tiempo encontrar la mutación de dicho gen

FIGURA 1

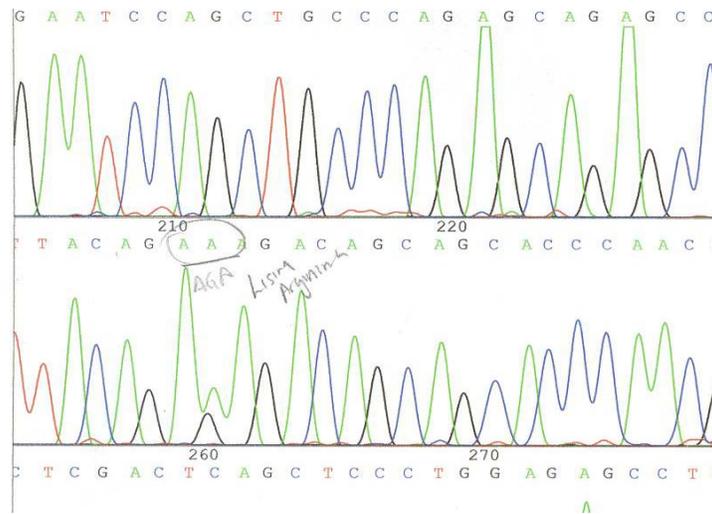
FOLIO	DIAGNOSTICO	TIGR			
		76	85	96	196
G35	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G41	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	HT	WT	WT	HT
G44	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G45	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G53	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	HT	WT	WT
G54	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	HT	WT	WT	WT
G55	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G56	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G57	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	HT	WT	WT	HT
G60	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G61	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	HT	WT	WT	WT
G69	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	WT	WT
G70	GLAUCOMA SEC. A ESTEROIDES	WT	WT	HT	WT

Tabla donde se muestra el número de nucleótidos de los cuales los (WT) son el gen silvestre es decir el control y el HT son heterocigotos, es decir que este se presento en 13 pacientes los cuales fueron los más significativos.

FIGURA 2

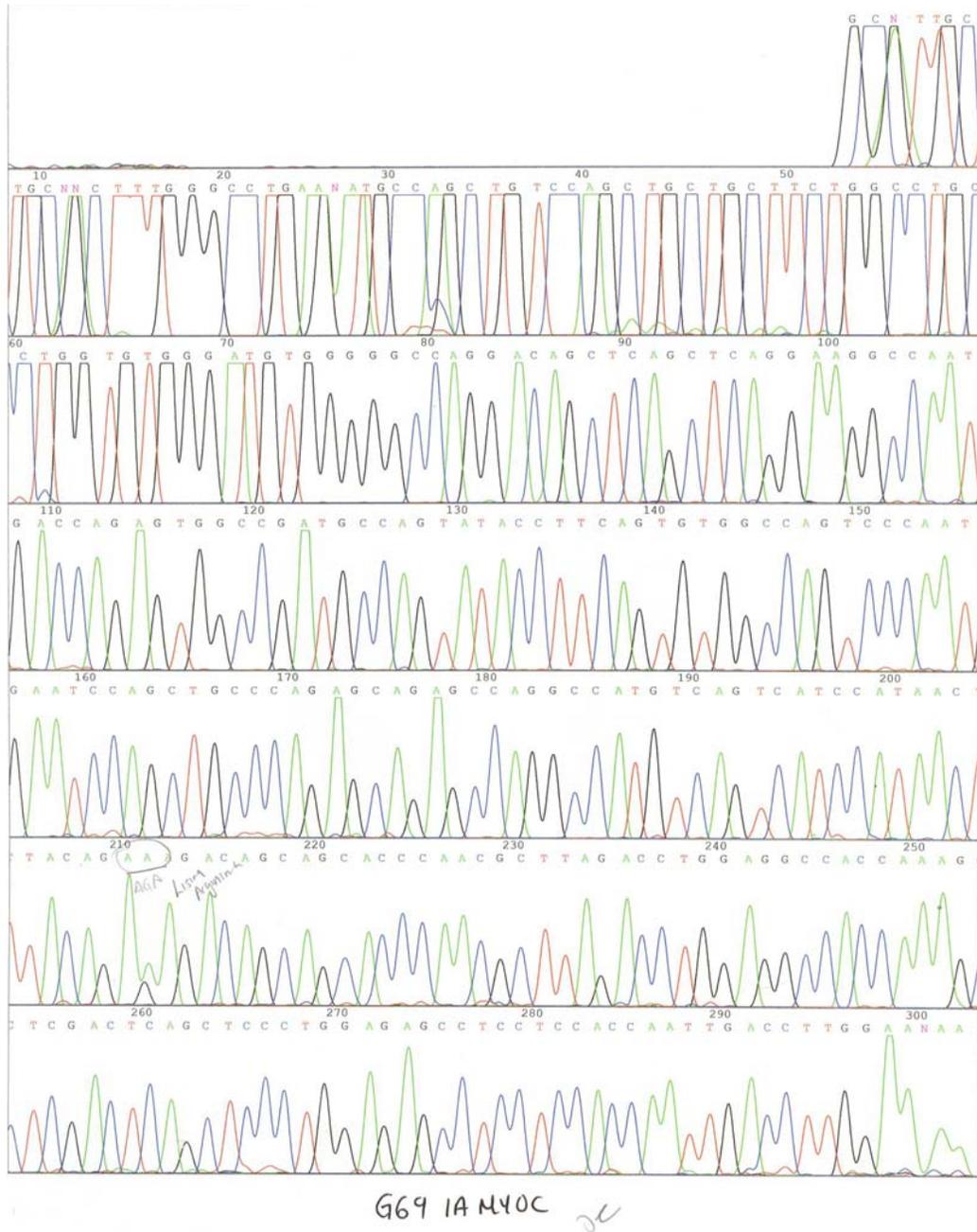
NUCLEOTIDOS					
SECUENCIA DE AMINOACIDOS		76	85	96	196
	NORMAL	AGA	CUA	GAG	CCA
	POLIMORFISMO	AAA	CUG	GGG	CAG

Se demuestra el cambio que existe de los aminoácidos, es decir los polimorfismos, los 5 más comunes que se encontraron, esto sin un cambio mutacional.



Electroferograma donde se demuestra uno de los polimorfismos encontrados, el cual está señalado, el cambio fue de Arginina (AGA), que es lo que se espera encontrarse en la población normal, por Lisina (AAA), en un paciente con glaucoma secundario a esteroides.

FIGURA 3



Electroferograma: de un paciente con polimorfismo en el gen MYOC.

DISCUSIÓN.

Aproximadamente 1/3 de la población normal desarrolla un marcado incremento de la tensión intraocular mayor de 35 mm Hg después de cuatro a seis semanas de aplicación tópica de corticoesteroides. En contraste, todos los pacientes con GPAA y glaucoma de presión normal desarrollarán alguna elevación de la tensión intraocular después del uso de corticoesteroides tópicos. (20)

Becker y Hahn plantearon que la respuesta a la prueba de esteroides estaba genéticamente determinada por un mecanismo autosómico monogénico. Se postuló que estaba presente un estado homocigoto recesivo en los pacientes con Glaucoma primario de ángulo abierto. (21)

El papel que juega la miocilina en el glaucoma secundario a esteroides se fundamenta en:

- 1) La miocilina está altamente expresada en las células trabeculares expuestas a los glucocorticoides.
- 2) La demora en su expresión es similar a la demora en el aumento de la presión en ojos tratados con glucocorticoides.
- 3) La dosis requerida para provocar la expresión de la proteína es similar a la requerida para aumentar la tensión ocular. (21, 22).

En las últimas investigaciones en el campo de la biología molecular y farmacología celular a nivel de la malla trabécular se ha logrado clonar el gen TIGR (respuesta inducida por glucocorticoides a nivel de la malla trabecular). (23)

El TIGR se ha aislado con diferentes métodos de tamizaje en cultivos de malla trabecular, luego de tiempos prolongados de administración de glucocorticoides. Este patrón de inducción por glucocorticoides concuerda con la dosis y el tiempo requerido para elevar la tensión ocular en pacientes que reciben glucocorticoides. La inducción progresiva del TIGR combinada con las características específicas de su cDNA sugiere que el TIGR debe considerarse como un gen candidato implicado en la obstrucción del flujo del humor acuoso en el glaucoma. (24)

El gen TIGR se encuentra en los límites del 1q 23-24 y es posible que defectos del gen o sus moduladores determinen las diferentes presentaciones clínicas tales como dependencia de la edad y de la respuesta a glucocorticoides en GPAA en comparación con otros tipos de glaucoma. (25)

Este gen induce la producción de glicoproteínas por las células trabeculares, lo que contribuye a la resistencia de drenaje, que sugiere una interacción con otras glicoproteínas como fibronectina, laminina y compuestos como el ácido hialurónico y otros glicosaminoglicanos. (25)

Se verificó que el TIGR es una proteína de respuesta al estrés de las células de la malla trabecular, luego de haber sido expuestas al peróxido de hidrógeno que genera un enlace potencial entre el glucocorticoide y los mecanismos oxidativos involucrados en la patogénesis del glaucoma. Estudios de la estructura del TIGR han mostrado que los estímulos hormonales y ambientales pueden regular su producción. (25)

Existe un análisis extensivo de 1703 pacientes de las mutaciones del TIGR/MYOC en tres distintas poblaciones las cuales incluyeron población

caucásica, negra y asiáticos, esto para demostrar que la frecuencia de las mutaciones era similar en todas las poblaciones. Cerca del 90% de las mutaciones se encontraban localizadas en el exón 3, la mutación mas comúnmente observada era el **Gln368Stop**, encontrándose en el 1.6% de la población, esta mutación codifica para el aminoácido 135 de la C-terminus del MYOC/TIGR. (26)

Es evidente que los pacientes con mutaciones en el gen del TIGR/MYOC tienen un alto riesgo para desarrollar glaucoma, sin embargo no se ha descrito en otras enfermedades todavía. (26,27)

En nuestro estudio solo encontramos 5 polimorfismos en los pacientes con glaucoma secundario a esteroides, los cuales fueron en los nucleótidos 76 que tuvo un polimorfismo de arginina por lisina, en el nucleótido 85 solo cambio G por A, sin embargo se queda leucina por leucina, en el 96 fue glutámico por glicina y en el 196 el cambio fue prolina por glutamina esto nos indica que no hubo mutaciones del gen que puedan hacer que se desarrolle la enfermedad como tal, sin embargo debido a que es un estudio con poca población no podemos desechar la posibilidad de que haya mutaciones, siendo la mas común Gln368stop, por lo que esperamos ampliar la muestra para poder comprobar y verificar si la mutación antes mencionada se encuentra por igual en la población mexicana.

CONCLUSIONES:

- 1) El glaucoma secundario a esteroides es en su mayoría una patología de carácter iatrogénico, por lo que se debe tener cuidado con la administración prolongada de esteroides.
- 2) La edad de los pacientes con glaucoma secundario a esteroides en nuestro estudio tuvo un promedio de 63.5, como se menciona antes es más frecuente en pacientes de la tercera edad.
- 3) Aunque no hay una predilección por el sexo, hubo un predominio del sexo femenino en un 58%, mientras que el masculino fue de un 41%.
- 4) Aunque la muestra fue pequeña se encontraron 5 polimorfismos y no encontramos mutación para poder demostrar que el TIGR/MYOC este asociado a esta patología.
- 5) Aunque la genética molecular del glaucoma aun se encuentran en estudio, son un gran avance los genes que se han encontrado asociados a glaucoma ya que puede ser el inicio para ayudar a entender la patogénesis de la enfermedad y de esta forma comprenderla.
- 6) Se recomienda ampliar la muestra para poder demostrar si existe la misma mutación del gen TIGR/MYOC en la población mexicana, como se encontró en otros estudios de otras poblaciones.

BIBLIOGRAFIA

- 1) John H. Fingert, Elise Heon, Jeffrey M. Liebmann, Tetsuya Yamamoto, Jaime E. Craig, Julian Rait, Kazuhid Kawase, Seketien Moh, Yvonne M. Buys, Joanne Dickinsson, Robin R. Hockey and, Edwin M. Stor. Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum.Mol.Genet.* 1998, 8, 899-905.
- 2) Xinya ZHnag, Abbot F. Clark and Thomas Yono. Regulation of Glucocorticoid Responsiveness in Glaucomatos Trabecular Meshwork Cell by Glucocorticoid Receptor B. *Inv. Ophthalmology and Visual Science*, 2005; 12:4607-4616.
- 3) Byona Su Kim, Olga V.Savinova, Mark V. Ready, Janice Martin, Yi Lun, Richard S. Smith and Randy L. Johnson. Targetted Discription of the Myocilin Gene(Myoc) Sugggest that Human Glaucoma- Caussing rotations are Gain of Fuction. *Molecular and Cellular Biology*, 2001; 22: 7707-7713.
- 4) Ernest R. Tahmm, PLD and Jon R. Polansky. The TIGR/ MYOL Gene and Glaucoma; Oportunities for New Understandings. *Journal of Glaucoma*, 2001; 10:59-512.
- 5) Ernest Rtamm, MD and Paul Russell. The Role of Myolin/ TIGR in Glaucoma: Ressits of the Glaucoma Reserch Foundation Catalyst Meeting in Berkelly, California, March 2000. *Journal of Glaucoma*. 2001; 10:239-339.
- 6) Relief Jones III and Douglas J. Rhee. Corticosteroid- induced ocular Hypertension and Glaucoma in a brief review and update of the literature. *Corr.Opin. Ophthalmol* 2006, 17:163-167.
- 7) Rodolfo A. Perez Grossmann. *Genética en Glaucoma*. Instituto de Glaucoma y Catarata de Lima, 2005.
- 8) Bao-Jian Fan, Yuk- Fai Leung, Chi Pui Pang, D. Phil, Dorothy S.P. Fan. FRCS, Dan- Yi Wang, MD, Wing -Chiu Tong, Bsc, Poney O.S Dennis, Lamm. Polymorphisms in the Myocilin Promoter Unrelated to the Risk and Severity of Primary Open-Angle Glaucoma. *J Glaucoma* 2004; 13: 377-384.
- 9) Lichter, Paul R. Md. Genetics of the Glaucoma. *J Glaucoma* 2001; 10: 513-515.
- 10) Claudia S. Cohen and R. Rand Allinghann. The dawn of genetic testing for Glaucoma. *Curr. Opin.* 2004, 15: 75-79.
- 11) Arijit Muknopaddhyay, Moulinath Acharya, Saibal Mukherjee, Jharna Ray, Sumit Choudhury, Mita Khan, Kunal Ray. Mutations in MYOC Gene of Indian Primary open angle glaucoma patients. *Molecular Vision* 2002; 8: 442-448.
- 12) Craig, Jaime E. , D.Phil ; Mackey, David A. ,Franco. Glaucoma genetics: where are we? Where will we go?. *Curr, Opin in Ophthal*, 1999; 10: 126-134

- 13) Durell Wu Dunn, Md, PHD. Genetic basics of Glaucoma, Curr . Opin in Ophthalmol. 2002; 13: 55-60.
- 14) Karali A. P. Russewill, F.H.Stefani and E.R. Tamm, Localization of myocilin/trabecular meshwork –inducible glucocorticoid response protein in the human eye. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2000; 41: 729-740.
- 15) Cristina Villanueva M. Sandra Joffe, Ma Ofelia Niño de Rivera, Ma de la Luz Arenas Sordo, Alicia Cervantes Peredo, Marisol López López. Genética y Oftalmología. Publicaciones Educativas en Oftalmología. 2000 145-147.
- 16) Ricard CS, Agapova OA, Salvador-Silva M. et al. Expresión of myocilin/TIGR in normal and glaucomatous primate optic nerves. Exp. Eyes Res. 2001; 73: 433- 437
- 17) Kirstein L, Cvekl A, Chauchan BK, et al. Regulation of human Myocilin/ TIGR gene transcription in trabecular meshwork cells and astrocytes role of upstream stimulatory factor. Genes Cells. 2000; 5: 661-676
- 18) Shepard AR, Jacobson N, Fingert JH, et al. Delayed secondary glucocorticoid responsiveness of MYOC in human trabecular meshwork cells. Invest Ophthalmol Vis. Sci. 2001; 42: 3173-3181
- 19) Zee RY, Hoh J, Cheng S. et al. Multi-locus interactions predict risk for post-PTCA restenosis: an approach to the genetic analysis of common complex disease. Pharmacogenomics J. 2002;2:197-201
- 20) Swiderski RE, Ross JL, Fingert JH, et al. Localization of MYOC transcripts in human eye and optic nerve by in situ hybridization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000;41:3420-3428
- 21) Colomb E., Nguyen, T.D., Bechetoille, C.L y cols. Variations in the myocilin gene in patients with open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol 2002; 12(9): 1189-1197.
- 22) Angius,A.; Spinelli, P.; Ghilotti, G y cols. Myocilin Gln368stop mutation and advanced age as risk factors for late-onset primary open-glaucoma. Arch Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(3): 729-740
- 23) Ressiniotis, T., Griffiths, P.G., Birch, M. y cols. The role of apolipoprotein E gene polymorphism in primary open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol 2004; 122 (2): 258-261.
- 24) Garrott HM, Walland MJ. Glaucoma from topical corticosteroids to the skin of the eyelids. Clin Exp Ophthalmol 2004; 32: 656-657.
- 25) Fingert JH, Clark AF, Craig JE, et al. Evaluation of the myocilin glaucoma gene in monkey and human steroid-induced ocular hypertension. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001, 42: 145-152

- 26) Craig JE, Baird PN, Healey DL, et al. Evidence for genetic heterogeneity within eight glaucoma families, with the GLCA1A Gln368STOP mutation being an important phenotypic modifier. *Ophthalmology* 2001, 108: 1607-1620
- 27) Mabuchi F, Yamagata Z, Kashiwagi K, et al. A sequence change (Arg158Gln) in the leucine zipper-like motif region of the MYOC/TIGR protein. *J Hum Genet* 2001, 46:85-89

ANEXO I TABLAS

TABLA #1

Distribución porcentual de los pacientes con glaucoma secundario a esteroides según sexo

	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
SEXO	12	17	29
TOTAL %	58.60%	41.35%	100%

TABLA #2

Distribución porcentual de los pacientes con glaucoma secundario a esteroides según edad.

EDAD	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
35-45	2	3	5
45-55	4	2	6
55-65	3	7	10
MAS 65 años	3	5	8
TOTAL	12	17	29

Media: 63.5

ANEXO II GRAFICAS

GRAFICA # 1: Distribución porcentual de las personas con glaucoma secundario a esteroides según sexo

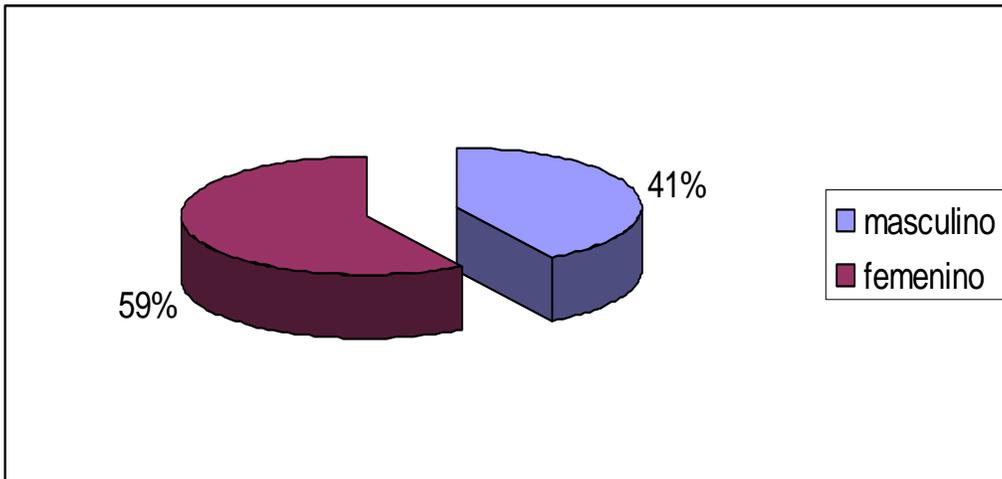
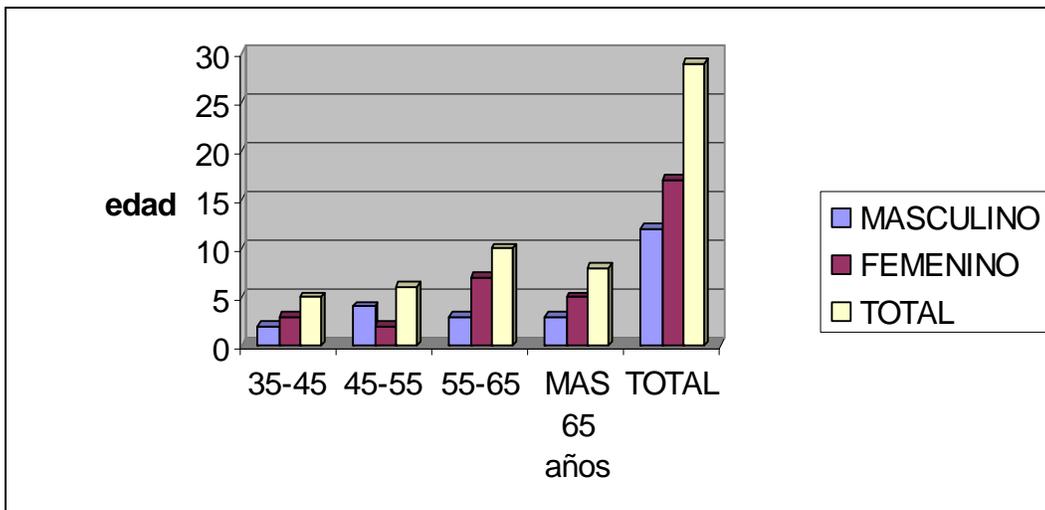


GRAFICO # 2: Distribución porcentual de los pacientes con glaucoma secundario a esteroides según la edad



AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar al Servicio de Genética, en especial al Dr. Cuevas y a Luz Ma. por el apoyo y trabajo realizado para terminar esta tesis, sin ellos hubiera sido imposible llevarla a cabo. Gracias.

Al Dr. Babayan, gracias por su enseñanza y conocimientos, pero sobre todo por la confianza para la realización de esta tesis.