

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO
E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

ASOCIACIÓN DE NIVELES DE OXIDO NITRICO EN PACIENTES CON SINDROME DE
PSEUDOEXFOLIACIÓN, EN COMPARACIÓN CON SUJETOS SANOS

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DRA. ANA LORENA GUTIERREZ FARACH

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD

OFTALMOLOGÍA

ASESOR DE TESIS

DR. GUILLERMO DE WIT CARTER

DR. LUIS ALBERTO SALAZAR LÓPEZ

DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA

NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO

245.2010

2011



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.

DR. FÉLIX OCTAVIO MARTÍNEZ ALCALÁ
COORDINADOR DE CCAPADESI

DR. GUILBALDO PATIÑO CARRANZA
JEFE DE ENSEÑANZA

DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DRA. JUDITH SANDRA SARMINA
PROFESOR TITULAR

DR. GUILLERMO DE WIT CARTER
ASEOSR DE TESIS

DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA
ASESOR DE TESIS

DR. LUIS ALBERTO SALAZAR LÓPEZ
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Termina una etapa de estudio, de grandes esfuerzos, sacrificios, satisfacciones, logros y de gran aprendizaje. Ser médico especialista en oftalmología es para mí una gran responsabilidad que durante estos tres años de residencia lo he aprendido.

Agradezco a Dios, por estar a mi lado en cada momento de mi vida, por darme fuerza, sabiduría, paciencia y toda su confianza para cumplir cada una de mis metas.

Agradezco a mis padres, quienes han sido el mayor apoyo en toda mi vida y sé que sin ellos esto no hubiera sido posible, gracias mamá y papá por todo su amor, este y todos mis triunfos se los debo a ustedes.

A mi esposo Adrian por no dudar y confiar en todas mis decisiones, por su apoyo incondicional durante mi carrera, por estar a mi lado en todo momento demostrándome siempre su amor, gracias por ser parte de mi vida.

A mis hermanas por su gran apoyo y cariño; a mi hermana Elen por hacer de este un camino más fácil con sus consejos, anécdotas y alegrías, por escucharme en todo momento y ser mi mejor amiga.

Agradezco a todos mis maestros por recibirme y aceptar dar parte de su tiempo en mi enseñanza, gracias por compartir todos sus conocimientos, sus experiencias, por impulsarme y motivarme a cumplir mi meta.

A mis compañeros quienes fueron mi familia durante estos tres años. Y finalmente a mis pacientes por ser el instrumento de nuestro aprendizaje.

INDICE

1	Resumen.....	6
2	Abstract.....	8
3	Introducción.....	10
4	Definición del problema.....	13
5	Hipótesis.....	13
6	Objetivos.....	13
	6.1 Objetivo general.....	13
	6.2 Objetivos específicos.....	13
7	Justificación.....	14
8	Material y métodos.....	15
	8.1 Diseño metodológico.....	15
	8.2 Tipo de estudio.....	15
	8.3 Definición de la población.....	16
	8.3.1 Criterios de selección.....	16
	8.3.2 Especificación de las variables.....	16
	8.3.3 Tipo de variable y escala de medición.....	16
	8.4 Descripción general del estudio.....	17
	8.5 Diseño estadístico.....	18
9	Resultados.....	19
10	Discusión.....	22
11	Conclusiones.....	24
12	Referencias.....	25
13	Anexos.....	28

1. RESUMEN

Objetivo: Evaluar la concentración de óxido nítrico en lágrima, así como la de interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en el suero de pacientes con síndrome de pseudoexfoliación e individuos sanos.

Material y métodos: estudio retrospectivo, observacional, transversal y descriptivo, realizado en el Servicio de Oftalmología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE en el periodo de Marzo de 2009 a Junio de 2010. La muestra consistió de 33 pacientes con síndrome de pseudoexfoliación y 16 individuos sanos pareados en edad, que constituyeron el grupo control. A todos los individuos, previo ayuno, se les tomo una muestra de sangre periférica (10 ml) y una muestra de lagrime (50 ul). Previa obtención de suero por centrifugación a 1200 rpm, se determino la concentración de interferón gamma (IFN- γ) y de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) por inmuno ensayo utilizando kits comerciales de la marca R & D systems. La concentración de oxido nítrico en lagrime se determino mediante el reactivo de Griess. Todos los individuos de este estudio otorgaron su consentimiento previa explicación de los objetivos del estudio. El análisis de los resultados se efectuó utilizando la T de Student (SigmaStat v. 3.5). Se considero como estadísticamente significativo cualquier valor de $p < 0.05$.

Resultados: La edad promedio de los pacientes en el grupo estudio fue de 78 años (53-96), mientras que en el grupo control fue de 68 años (53-80). El 25% de los pacientes con SPX tenía Diabetes Mellitus y el 56% Hipertensión arterial. Ningún individuo en el grupo control tenia Diabetes y solo el 6% tenia hipertensión arterial. El Índice de Masa Corporal (IMC) en el grupo estudio fue de $26.9 \pm 6.3 \text{ kg/m}^2$ vs $27.6 \pm 3.7 \text{ kg/m}^2$ en el grupo control. Se confirmo la presencia de Glaucoma en el 62% de los pacientes con SPX en comparación con un 18% en los sujetos control. La concentración de óxido nítrico en lagrime no mostró diferencias estadísticamente significativas en el grupo de estudio ($9.64 \pm 4.92 \text{ } \mu\text{mol/lit}$) comparados con el grupo control (10.28 ± 4.43)($p = 0,74$).

La concentración sérica de IFN- γ fue de 8.85 pg/ml \pm 4.47 en el grupo de estudio vs 13.03 \pm 7.58 pg/ml en el grupo control (p N.S.). De manera similar, la concentración de TNF- α fue de 6.33 \pm 0.83 pg/ml para el grupo en estudio vs 6.55 \pm 1.27 pg/ml para el grupo control (p N.S.).

Conclusión: No se encontraron diferencias significativas en la concentración de óxido nítrico en lágrima, IFN- γ y TNF- α entre los pacientes con síndrome de pseudoexfoliación y sujetos control. El tratamiento médico (estatinas, ácido acetil salicílico) de las patologías asociadas en estos pacientes afecta la determinación de las citocinas pro inflamatorias. Esto último inhabilita la determinación de estas moléculas como marcadores de evolución o de gravedad en los pacientes con SPX.

Palabras clave: óxido nítrico, síndrome de pseudoexfoliación, interferón gamma, factor de necrosis tumoral alfa.

2. ABSTRACT

Aims: To evaluate the concentration of nitric oxide in tears, as well as interferon gamma (IFN- γ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in the serum of patients with pseudoexfoliation syndrome and healthy individuals.

Material and Methods: A retrospective, observational, cross sectional, conducted in the Ophthalmology Department of the Regional Hospital Adolfo López Mateos ISSSTE in the period March 2009 to June 2010. The sample consisted of 33 patients with pseudoexfoliation syndrome and 16 age-matched healthy individuals, who constituted the control group. All individuals on fasting, they took a blood sample (10 ml) and a tear sample (50 ul). After obtaining serum by centrifugation at 1200 rpm, it was determined the concentration of IFN- γ and TNF- α by immunoassay using commercial kits brand R & D systems. The nitric oxide concentration in tears was determined by Griess reagent. All individuals in this study gave their consent after explaining the objectives of the study. The analysis of the results was performed using the Student t test (SigmaStat v. 3.5). Was considered as statistically significant any value of $p < 0.05$.

Results: The mean age of patients in the study group was 78 years (53-96), while in the control group was 68 years (53-80). 25% of patients had Diabetes Mellitus SPX and 56% arterial hypertension. No individual in the control group had diabetes and only 6% had hypertension. Body Mass Index (BMI) in study group was $26.9 \pm 3.7 \pm 6.3 \text{ kg/m}^2$ vs 27.6 kg/m^2 in the control group. It confirmed the presence of glaucoma in 62% of patients with SPX compared with 18% in control subjects. The concentration of nitric oxide in tears showed no statistically significant differences in the study group ($9.64 \pm 4.92 \text{ umol / L}$) compared with the control group (10.28 ± 4.43) ($p = 0.74$).

The serum concentration of IFN- γ was 8.85 pg / ml \pm 4.47 in the study group vs 13.03 \pm 7.58 pg / ml in the control group (p NS). Similarly, the concentration of TNF- α was 6.33 \pm 0.83 pg / ml for the study group vs 6.55 \pm 1.27 pg / ml for the control group (p NS).

Conclusion: No significant differences in nitric oxide concentration in tears, IFN- γ and TNF- α among patients with pseudoexfoliation syndrome and control subjects. Medical treatment (statins, acetylsalicylic acid) associated pathologies in these patients affects the determination of proinflammatory cytokines. The latter disables the determination of these molecules as markers of evolution or severity in patients with SPX.

Keywords: nitric oxide, pseudoexfoliation syndrome, interferon gamma, tumor necrosis factor alpha.

3. INTRODUCCIÓN.

El Síndrome de pseudoexfoliación (SPX) es una manifestación ocular de una elastosis sistémica (3). Su etiología aun se desconoce aunque esta relacionado con factores genéticos, ambientales, traumáticos y/ o inmunológico. Su prevalencia va del 0.67% en individuos entre los 52-64 años de edad, hasta 5% en personas mayores de 78 años de edad. La prevalencia también varía dependiendo de la raza, ausencia total de este síndrome en esquimales hasta 0.4% en asiáticos, 1.8% en caucásicos de Norteamérica, 1.9-13.5% en las diferentes etnias de la India, 6.3% en Noruegos, 10.1% en Españoles y 22% en Finlandeses. La prevalencia más elevada (38%) se ha encontrado entre los indios Navajo de los Estados Unidos de Norteamérica (5). Se caracteriza por una producción excesiva, en el adulto mayor, de proteína fibrilar la cual se acumula en el cristalino y la zonula, preferencialmente, que les da un color blanco grisáceo, y no se degrada. Esta proteína se sintetiza en el epitelio no pigmentado del cuerpo ciliar, el pigmento posterior del iris, y el epitelio pre ecuatorial del cristalino (1). Se asocia, como el factor de riesgo más frecuente, con glaucoma secundario de ángulo abierto.



Fig. 1 Deposito fibrilar en borde pupilar

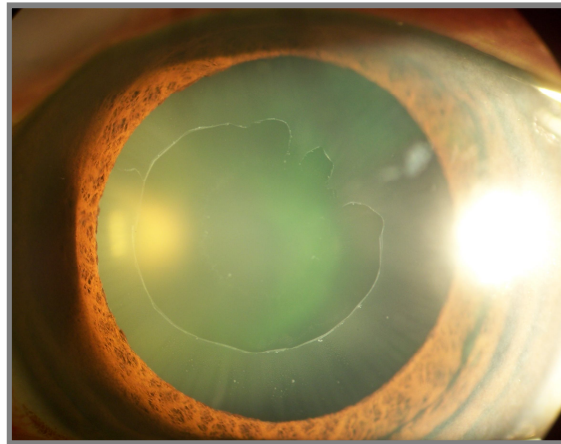


Fig. 2 Deposito fibrilar en capsula anterior del cristalino

La relación entre SPX con la distribución geográfica parece estar influida por aspectos genéticos con preponderancia en la transmisión materna y, por lo tanto, una relación en la transmisión mitocondrial, así como una relación con algunos antígenos del HLA.

La proteína fibrilar, compuesta por filamentos de 10-12 nm de espesor y en espiral, se compone de glucoproteínas proteoglicanos y glucosaminoglucanos (heparan sulfato, condroitina sulfato, dermatan sulfato, y ácido hialurónico). Se sabe que el SPX está relacionado con lesiones endoteliales y de hecho se le considera como una manifestación de la aterosclerosis (6). Una de las causas más comunes de daño endotelial se relaciona con la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (11), formación de trombos y agregación plaquetaria. La fisiopatología del síndrome de SPX está asociada con sobre expresión de TGF- β 1, inflamación crónica, estrés oxidativo y celular, reflejado en una mala regulación de las enzimas antioxidantes, y numerosas alteraciones de los endotelios vasculares.

El óxido nítrico (ON) es un factor vasodilatador endotelial importante; es un gas simple implicado en la regulación de procesos fisiológicos que se dan en el sistema cardiovascular, nervioso, muscular e inmunológico. El incremento de óxido nítrico al reaccionar con peróxido de hidrógeno también puede generar especies reactivas de nitritos que son altamente tóxicas para las membranas celulares, favoreciendo la lipoperoxidación de las mismas. Es por esto que aunque el óxido nítrico se utiliza como un marcador de la regulación funcional del endotelio también puede servir como marcador de daño celular.

Además del endotelio, existen otras poblaciones celulares que producen y liberan especies reactivas de oxígeno. Entre estas poblaciones encontramos algunas células del sistema inmune, específicamente los macrófagos y las células NK. Estas células del sistema inmune cuando se activan secretan citocinas pro inflamatorias entre las que sobresalen el interferón gamma (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral (TNF- α). (22).

El IFN- γ es una citocina soluble que, a través de la regulación transcripcional de genes inmunológicamente relevantes, especialmente los relacionados con la respuesta de macrófagos a la infección, regula la síntesis de otras citocinas relacionadas con los procesos de inflamación crónica, tal como la aterosclerosis.

El TNF- α contribuye con la adhesión de linfocitos y neutrófilos y la estimulación de leucocitos – procesos centrales en la inflamación-, y produce deterioro de proteoglicanos- componente principal de las microfibrillas que se depositan en el ojo en los pacientes con SPX.

Debido a lo anterior, decidimos evaluar en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación la concentración de óxido nítrico en lágrima, así como la de IFN- γ y TNF- α en suero. El objetivo de este trabajo es evaluar si existen diferencias en las concentraciones de estas moléculas en los pacientes con SPX que nos permitan estratificar la gravedad y/o evolución de esta patología.

4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

¿Existen concentraciones alteradas de óxido nítrico así como concentraciones altas de interferón gamma y factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación en comparación con individuos sanos?

5. HIPOTESIS

La concentración en lagrime de óxido nítrico se encuentra alterada en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación, en comparación con individuos sanos.

La concentración sérica de IFN- γ y TNF- α se encuentra elevada en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación en comparación con sujetos sanos.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

- Cuantificar y comparar la concentración en lagrime de óxido nítrico en los pacientes con Síndrome de Pseudoexfoliación y en individuos sanos.

6.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración de óxido nítrico en lagrime ($\mu\text{mol/L}$) en ambos grupos.
- Determinar la concentración sérica de IFN- γ y TNF- α en ambos grupos.
- Analizar la probable asociación de IFN- γ y TNF- α así como del óxido nítrico lagrimal con la evolución o gravedad del Síndrome de pseudoexfoliación.

7. JUSTIFICACIÓN.

El SPX está asociado con enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares, como accidente isquémico transitorio, angina de pecho, hipertensión arterial, infarto al miocardio, EVC, aneurisma de la aorta abdominal, disfunción miocárdica asintomática, enfermedad de Alzheimer, hipoacusia neurosensorial, demencia senil, trombosis, embolias y hemorragias cerebrales (8). El síndrome de SPX es una patología sistémica relacionada con la edad caracterizada por alteraciones en la matriz extracelular, lesiones endoteliales y desregulación de los mecanismos de vasodilatación mediados por óxido nítrico. En virtud de las múltiples complicaciones clínicas que se pueden presentar, esta patología es de gran importancia para el oftalmólogo.

La literatura ya existente afirma que en los pacientes con síndrome de pseudoexfoliación se pueden encontrar concentraciones séricas elevadas de citocinas pro-inflamatorias (22) y óxido nítrico (4), ya que la fisiopatología de base conlleva lesión endotelial severa, y dado que este padecimiento está fuertemente asociado con enfermedades cardiovasculares serias, tales como enfermedad arterial oclusiva y trombotica, el beneficio de este estudio es comprobar si se encuentran elevadas para así tener un parámetro que nos permita prever la evolución y/o gravedad del padecimiento.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1. Diseño Metodológico

Se realizó un estudio Retrospectivo, Observacional, Transversal y Descriptivo

8.2. Tipo de estudio

Casos y controles

8.3 Definición de la población objetivo.

Pacientes que acudieron al servicio de oftalmología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE, en un periodo comprendido de Marzo del 2009 a Junio del 2010 con diagnóstico de Síndrome de Pseudoexfoliación, correspondientes al grupo de estudio e individuos sanos correspondientes al grupo control.

Grupos de estudio.

Grupo 1 (casos): Pacientes con diagnóstico de síndrome de pseudoexfoliación.

Grupo 2 (controles): Individuos sanos.

Tamaño de la muestra.

Se estudiarán 33 pacientes en el grupo de estudio y 16 individuos sanos, pareados por edad, que cumplieran los siguientes criterios:

8.3.1 Criterios de selección:

Criterios de Inclusión

- Ser derechohabientes del ISSSTE
- Pacientes mayores de 50 años de edad que acudan a la Consulta del Servicio de Oftalmología con Diagnóstico Clínico de Síndrome de Pseudoexfoliación.

Criterios de exclusión

- No ser derechohabientes del ISSSTE
- No contar con el diagnóstico establecido de Síndrome De Pseudoexfoliación.
- Pacientes con Uveítis Anterior Activa ó cuadros de uveítis de repetición.

8.3.2 Especificación de variables

8.3.3 Tipo de variable y escala de medición.

Nombre de la variable	Tipo de variable	Escala de medición
Edad	Ordinal Cuantitativa	Años
Sexo	Nominal Cualitativa	---
Talla	Ordinal Cuantitativa	Metros (m)
Peso	Ordinal Cuantitativa	Kilogramos (kg)
Índice de masa corporal	Ordinal Cuantitativa	Kg/m ²
Tensión arterial	Ordinal Cuantitativa	mmHg
Frecuencia cardiaca	Ordinal Cuantitativa	Latidos por minuto (lpm)
Tabaquismo	Nominal Cualitativa	---
Antecedente de Hipertensión arterial sistémica	Nominal Cualitativa	---
Antecedente de Diabetes Mellitus	Nominal Cualitativa	---
Antecedente de Glaucoma	Nominal Cualitativa	---
Antecedente de Cardiopatía	Nominal Cualitativa	---
Colesterol	Ordinal Cuantitativa	mg/dl
Triglicéridos	Ordinal Cuantitativa	mg/dl
Glucemia	Ordinal Cuantitativa	mg/dl
Oxido Nítrico en lagrime	Ordinal Cuantitativa	µmol/l
Interferon gamma sérico	Ordinal Cuantitativa	pg/ml
Factor de necrosis tumoral alfa	Ordinal Cuantitativa	pg/ml

8.4 Descripción general del estudio.

Se estudiaron 33 sujetos con Síndrome de pseudoexfoliación y 16 individuos sanos que fungieron como grupo control, evaluados en el Servicio de Oftalmología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE en el periodo de Marzo de 2009 a Junio de 2010.

Se obtuvo consentimiento informado escrito de todos los pacientes, así como la aprobación del comité institucional de investigación.

Se elaboro historia clínica detallada enfocada en padecimientos tales como Diabetes mellitus, Hipertensión arterial sistémica, enfermedad arterial periférica y coronaria, eventos tromboticos, enfermedad cerebro vascular, y uso de medicamentos.

Todos los sujetos fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa que incluyó, capacidad visual, exploración con lámpara de hendidura, presión intraocular medida con tonómetro de Goldman por aplanación, gonioscopia y examinación de fondo de ojo bajo dilatación.

El diagnostico de síndrome de pseudoexfoliación se realizo basado en la presencia de depósito de material blanco-grisáceo en la superficie anterior del cristalino, o en el borde pupilar, la superficie anterior del iris, el endotelio corneal o en el ángulo de la cámara anterior. Además se buscaron defectos de transiluminación del iris, especialmente en el margen pupilar y el collarete.

Los sujetos control se eligieron de un grupo de individuos en el mismo rango de edad que el grupo de estudio. Ninguno de los individuos del grupo control padecía enfermedades crónico-degenerativas tales como Diabetes mellitus, Hipertensión arterial sistémica, enfermedad cerebro vascular, trombosis venosa e insuficiencia periférica vascular.

A todos los pacientes y los individuos del grupo control se les solcito, el mismo día que se tomo la muestra de sangre para evaluar la concentración sérica de IFN- γ y TNF- α , una química sanguínea completa, biometría hemática, perfil de lípidos y hemoglobina glucosilada.

Cuantificación de nitratos en lágrima

El ON es una molécula lábil, de vida media corta, que es rápidamente convertida a nitrito y nitrato, por esta razón, los niveles totales de nitrito (NO₂) y nitrato (NO₃) en los fluidos biológicos es usualmente utilizado como indicador de la producción de ON[2]. El ensayo de determinación de nitratos se ajusto de tal manera que 25 ul de lágrima dieran lecturas confiables. Se utilizo el reactivo de Griess [3]. La cuantificación de nitrito se basa en la absorción de un cromoforo a 545nm formado por la reacción de nitrito con una mezcla de naftiletilenediamina y sulfanilamida. Las curvas de calibración se prepararon con concentraciones conocidas (1-100µmol/l) de nitrito de sodio.

Cuantificación sérica de IFN- γ y TNF- α

La muestra de 10ml de sangre venosa obtenida en un tubo vacutainer sin anticoagulante, previo ayuno de 8hrs, fueron centrifugadas a 1200 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. El suero de cada muestra fue alicuotado y almacenado a -20°C. 100 ul de la cada una de las alícuotas se utilizaron para cuantificar la concentración de IFN- γ y de TNF- α mediante un ELISA utilizando el kit comercial IFN- γ -Quantikine y TNF- α -Quantikine (R&D systems) que tienen una sensibilidad de 6-800 pgr/ml. El procedimiento se efectuó siguiendo las instrucciones del fabricante.

8.5 Diseño estadístico

Los datos categóricos están descritos como frecuencia y porcentaje y los numéricos como media \pm 1 desviación estándar y se presentan como cuadros. Las diferencias se analizaron utilizando la T de Student (SigmaStat v 3.5). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

9. RESULTADOS

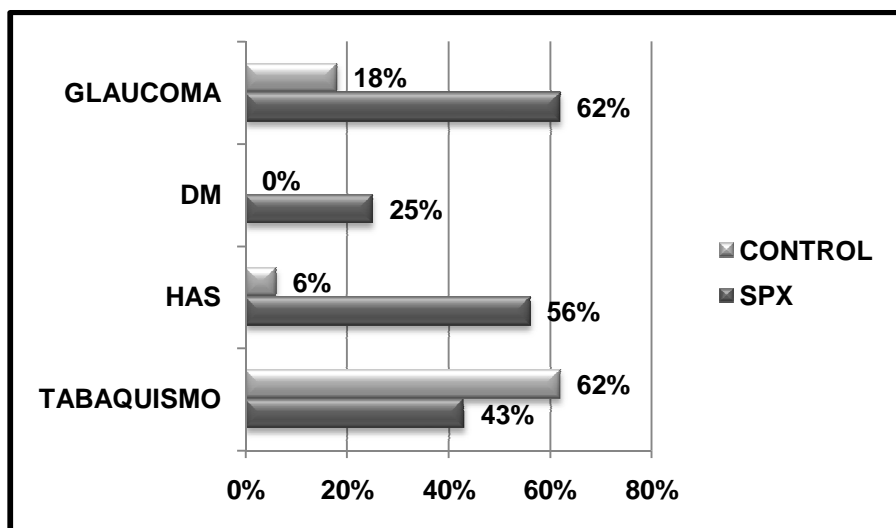
La muestra consistió en un total de 33 pacientes con Síndrome de pseudoexfoliación (grupo de estudio) y 16 sujetos sanos (grupo control). En el grupo de estudio el 53% (n=17) de los pacientes de sexo femenino con edad promedio de 78 años en un rango de 53-96 años. Para el grupo control el 68% (n=11) de sexo femenino con edad promedio de 68 años con un rango de 53-80 años. La edad de los pacientes entre ambos grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas.

Aunque el tamaño de la muestra de individuos control fue 50% menor a la de los pacientes, esta diferencia no significo ninguna imposibilidad de hacer el análisis estadístico de manera valida.

El porcentaje de pacientes con diabetes en el grupo estudio fue de 25% vs ninguno en el grupo control, siendo una diferencia estadísticamente significativa con una $p < 0.05$. En el 50% de los pacientes con diabetes del grupo en estudio, la glucemia no estaba controlada, y sólo un paciente presento cifras elevadas de glucemia (266 mg/mL), en este individuo la hemoglobina glicosilada fue de 11.7%.

El porcentaje de pacientes con Hipertensión arterial sistémica (HAS) y glaucoma fue de 56% y 62% del grupo en estudio vs 6% y 18% del grupo control, respectivamente (Ver grafica 1). El promedio del índice de masa corporal (IMC) en el grupo de estudio fue de 26.91Kg/m² vs 27.67kg/m² en el grupo control.

Grafica 1. Enfermedades concomitantes

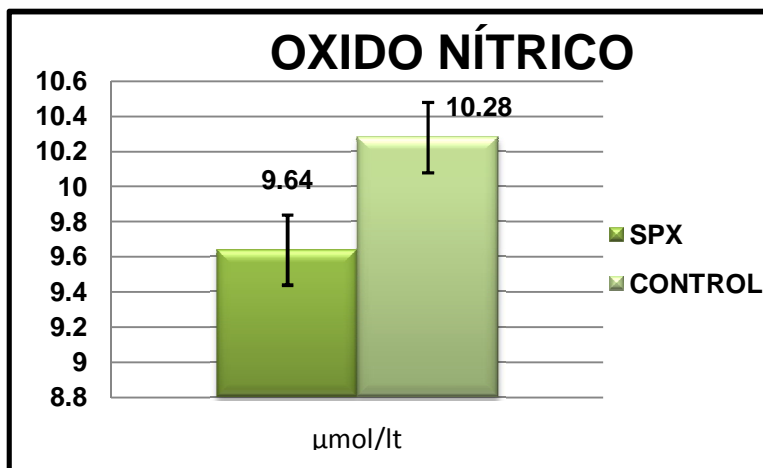


Solamente una paciente del grupo en estudio, de 77 años de edad, con antecedente de fibrilación auricular, HAS, en tratamiento con anticoagulantes y con diagnóstico de glaucoma; falleció por Infarto Agudo al Miocardio masivo durante el estudio. Los valores séricos de las citocinas no mostraron elevación.

La concentración de óxido nítrico en lagrime no mostró diferencias estadísticamente significativas en el grupo de estudio (9.64 ± 4.92 $\mu\text{mol/lit}$) comparados con el grupo control (10.28 ± 4.43) ($p = 0,74$). Ver grafica 2.

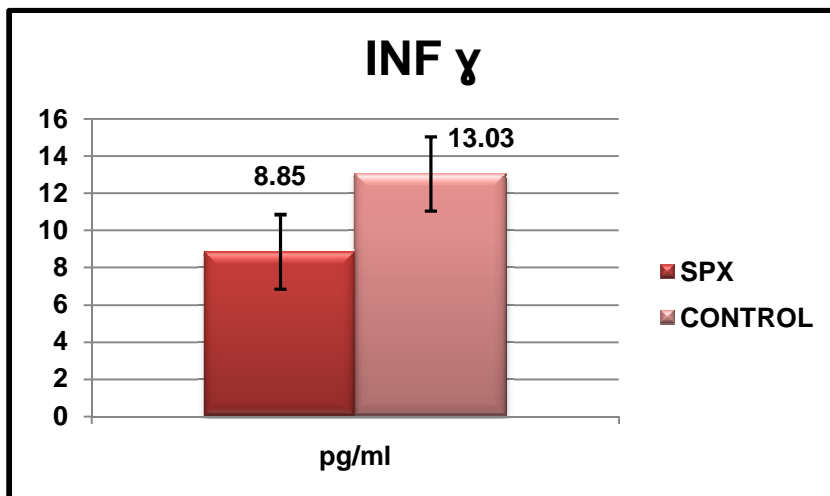
Llamo la atención que un paciente del grupo en estudio tuvo un valor de 57.9 $\mu\text{mol/lit}$; este paciente contaba con diagnostico de glaucoma neovascular absoluto que es una entidad en la que predomina la isquemia, la angiogenesis y por ende la inflamación.

Grafica 2. Concentración promedio de oxido nítrico en lagrime

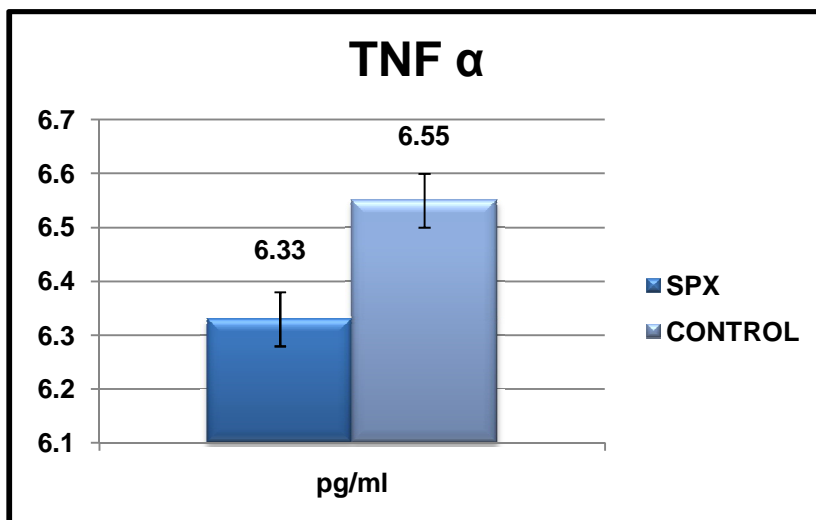


La concentración sérica de $\text{IFN-}\gamma$ fue de 8.85 $\text{pg/ml} \pm 4.47$ en el grupo de estudio vs 13.03 ± 7.58 pg/ml en el grupo control (p N.S.). De manera similar, la concentración de $\text{TNF-}\alpha$ fue de 6.33 ± 0.83 pg/ml para el grupo en estudio vs 6.55 ± 1.27 pg/ml para el grupo control (p N.S.). Ver grafica 3 y 4.

Grafica 3. Concentración promedio de IFN- γ para ambos grupos.



Grafica 4. Concentración promedio de TNF- α para ambos grupos.



10. DISCUSIÓN

El síndrome de pseudoexfoliación se caracteriza por el depósito de microfibrillas en el ojo. Estas se depositan en la cornea, ángulo camerular, cristalino y zónula, debilitando esta última. El depósito de este material se encuentra también en otros órganos (corazón, riñón, hígado, vesícula biliar, pulmón, meninges) (3). Entre las alteraciones que se han descrito en este síndrome sobresale la descompensación endotelial de la cornea (12), observación que refuerza, de manera clara, el importante papel de las lesiones severas del endotelio, en la fisiopatología de este síndrome. El daño en este tejido se caracteriza por reducción y pérdida de la hexagonalidad de las células endoteliales y cambio en su tamaño, así como disminución de la densidad endotelial (23). Esta última alteración se asocia con modificaciones locales en la producción de óxido nítrico. Esta posibilidad se refuerza por incremento en la concentración sérica de homocisteína (4).

La fisiopatología del síndrome de SPX está asociada con sobre expresión de TGF- β 1, inflamación crónica, estrés oxidativo y celular, reflejado en una mala regulación de las enzimas antioxidantes y numerosas alteraciones de los endotelios vasculares. En el proceso inflamatorio participan diversas citocinas, siendo TNF- α e IFN- γ , de las más relevantes ya que son los principales reguladores iniciales de la sobreexpresión de moléculas relacionadas con la adhesión y el anclaje de células inmunes (linfocitos T, linfocitos B, células NK, macrófagos) en el endotelio (25), modificando así la permeabilidad vascular y favoreciendo, cuando se pierde el control de la homeostasis, el desarrollo de trombos y la pérdida de la continuidad endotelial que a su vez favorece el desarrollo de placas ateromatosas. En los pacientes con SPX se ha demostrado claramente a nivel ocular la lesión del endotelio vascular razón por la cual decidimos evaluar la concentración sérica de estas dos citocinas con el objeto de encontrar la posible asociación entre la elevación de los niveles séricos y los locales. Para este fin es que evaluamos la concentración de ON en lágrima.

El IFN- γ es el representante de los interferones de tipo II, es producido por linfocitos CD4+ de tipo Th1, linfocitos CD8+ y células NK. El TNF- α es una citocina pro-inflamatoria y de defensa del huésped, cuya producción exagerada lleva a enfermedades inflamatorias crónicas (25).

No se encontraron diferencias en las concentraciones de ninguna de las citocinas entre ambos grupos. La posible razón es que estos individuos se encuentran en un estado perenemente pro-inflamatorio por la edad en la que se presenta este síndrome y porque se sabe que los individuos adultos mayores con índice de masa corporal mayor a 28kg/m² poseen concentraciones séricas elevadas de citocinas pro-inflamatorias y de adipocinas, tales como la lectina, que favorecen la secreción de TNF- α e IFN- γ por células inmunes. Se ha visto que la suplementación con interleucina 7 en modelos murinos disminuye la concentración sérica de estas citocinas. Otra posible explicación de las no diferencias, es la presencia de enfermedades concomitantes cardiovasculares en ambos grupos, cuyo tratamiento por lo general incluye ácido acetil salicílico y estatinas. Estos medicamentos alteran las concentraciones séricas de estas citocinas.

En relación al ON tampoco se encontraron diferencias significativas. Además de la explicación previa con relación a la modificación inducida por medicamentos, existe la posibilidad, dada la edad de los pacientes, que el engrosamiento endotelial corneal que caracteriza a este síndrome, actué como barrera física e impida la secreción hacia los compartimientos oculares del ON producido por el músculo liso y las células endoteliales. Estas posibilidades deben seguir siendo motivo de estudio más profundo. Dada la asociación del tipo de microfibrilla que se observa en este síndrome con los depósitos cerebrales en la enfermedad de Alzheimer sería interesante utilizar los modelos murinos que se desarrollan para esta última enfermedad para el estudio del SPX.

Existen otras áreas de interés relacionadas con la aterosclerosis y el depósito excesivo de microfibrillas. Sobresale la posibilidad de fallas en las enzimas encargadas de la degradación de estas fibrillas o bien en el aumento en la síntesis del amiloide β en estos pacientes particularmente en aquellos que tienen predisposición a la formación de trombos ya que las plaquetas son la principal fuente de síntesis de amiloide β .

Nuestra última sugerencia es que independientemente de las variaciones en las concentraciones de citocinas que observamos apoyamos el uso de ácido acetil salicílico en todos los pacientes con SPX independientemente de que tengan o no alguna patología cardiovascular asociada.

10. CONCLUSIONES

- No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de citocinas pro-inflamatorias ni de óxido nítrico en lágrima.
- Es posible que los tratamientos concomitantes en estos pacientes interfirieran con las determinaciones que se hicieron de TNF- α e IFN- γ .
- Es posible que la concentración de óxido nítrico en lágrima no se haya visto alterada por un efecto de barrera física que es condicionado por el engrosamiento del endotelio corneal.
- La prevención en el desarrollo de eventos tromboticos con ácido acetil salicílico, en individuos mayores de 55-60 años, podría disminuir o evitar la aparición del SPX.

12. REFERENCIAS

1. *Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder?* Schlotzer-Schrehardt UM, K.M., Naumann GO, Volkholz H. Arch Ophthalmol, 1992. 110: p. 1752-1756.
2. *Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase.* Bories PN, B.C., Clin Chem, 1955. 41: p. 904-907.
3. *Is exfoliation syndrome a sign of systemic vascular disease.* Ahti, T. Acta Ophthalmologica, 2008. 86: p. 832-836.
4. Homocysteine and nitric oxide levels in plasma of patients with pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma, and primary open-angle glaucoma. Altintaş O, Maral H, Yüksel N, Karabaş VL, Dillioğlugil MO, Çağlar Y. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2005 Jul;243(7):677-83.
5. Epidemiology of the pseudoexfoliation syndrome, A review. Amund Ringvold. Eye Department, National Hospital, University of Oslo, Oslo, Norway. ACTA OPHTHALMOLOGICA SCANDINAVICA 1999.
6. Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Am J Ophthalmol 1997;124:685–687.
7. Pseudo-exfoliation and mortality. Ringvold A, Blika S, Sandvik L. Acta Ophthalmol Scand 1997;75:255–256.
8. Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation. Shrum KR, Hattenhauer MG, Hodge D. Am J Ophthalmol 2000;129:83–86.
9. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO Am J Ophthalmol 2006; 141:921-37.
10. A possible link between the pseudoexfoliation syndrome and coronary artery disease. Citirik M, Acaroglu G, Batman C, et al. Eye 2007;21:11–15.
11. Review Article Is exfoliation syndrome a sign of systemic vascular disease? Ahti Tarkkanen Helsinki University Eye Hospital, Helsinki, Finland.

12. Pseudoexfoliation syndrome: pathological manifestations of relevance to intraocular surgery. R Max Conway PhD FRANZCO , 1,2 Ursula Schlötzer-Schrehardt PhD , 1 Michael Kühle MD 1 and Gottfried OH Naumann MD 1 *Clinical and Experimental Ophthalmology* 2004; 32 : 199–210.
13. Cardiovascular Effects of Systemic Nitric Oxide Synthase Inhibition With Asymmetrical Dimethylarginine in Humans. Jan T. Kielstein, MD; Burcu Impraim, MD; Solveig Simmel, MD; Stefanie M. Bode-Böger, MD, MPH; Dimitrios Tsikas, PhD; Jürgen C. Frölich, MD; Marius M. Hoeper, MD; Hermann Haller, MD; Danilo Fliser, MD, *circ.ahajournals.org* by on October 18, 2009.
14. INVOLVEMENT OF NITRIC OXIDE AND OTHER MOLECULES WITH REDOX POTENTIAL IN PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA. ZANÓN-MORENO V1, PONS S2, GALLEGO-PINAZO R3, GARCÍA-MEDINA J4, VINUESA I5, VILA BOU V6, PINAZO-DURÁN MD6, *ARCH SOC ESP OFTALMOL* 2008; 83: 365-372.
15. Disease and Modulation by Statin Therapy Association of Nitrotyrosine Levels With Cardiovascular. Mehdi H. Shishehbor; Ronnier J. Aviles; Marie-Luise Brennan; et al. *JAMA*. 2003;289(13):1675-1680.
16. Rol y mecanismos subcelulares del óxido nítrico en la regulación de la contractilidad miocárdica. Martín G. Vila Petroff.. *Rev Fed Arg Cardiol* 29: 501-507, 200.
17. Síndrome de pseudoexfoliación. Revisión bibliográfica. Dra. Ingrid Patricia Urrutia-Breton. *Revista Mexicana de Oftalmología*, Marzo-Abril 2009; 83 (2): 57-66.
18. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Aqueous Humor of Patients with Pseudoexfoliation Syndrome/ Glaucoma and Primary Open-Angle Glaucoma. Ursula Schlötzer-Schrehardt, Jürgen Lommatzsch, Michael Kühle, Anastasios G. P. Konstas, and Gottfried O. H. Naumann. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, March 2003, Vol. 44, No. 3.
19. Characterizing pseudoexfoliation syndrome through the use of ultrasound biomicroscopy. Suqin Guo, MD, Matthew Gewirtz, MD, Rajesh Thanker, MD, Matthew Reed, MD. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32:614-617.

20. Central Corneal Mechanical Sensitivity in Pseudoexfoliation Syndrome. Detorakis, Efsthios T MD, PhD; Koukoura, Stavrenia MD; Chrisochoou, Fotios MD; Konstas, Anastasios G MD, PhD; Kozobolis, Vassilios P MD, PhD. *Cornea*: August 2005 - Volume 24 - Issue 6 - pp 688-691 Clinical Sciences.
21. Pseudoexfoliation syndrome and secondary cataract. M. Kuchle, A. Amberg, P. Martus, N. Nguyen, and G. Naumann. *Br J Ophthalmol*. 1997 October; 81(10): 862–866.
22. Proinflammatory Cytokines Are Involved in the Initiation of the Abnormal Matrix Process in Pseudoexfoliation Syndrome/Glaucoma. Matthias Zenkel[®], Piotr Lewczuk[†], Anselm Jünemann^{*}, Friedrich E. Kruse^{*}, Gottfried O.H. Naumann^{*}, and Ursula Schlötzer-Schrehardt. *American Journal of Pathology*, april 2010.
23. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: a clinicopathologic study. Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. *Ophthalmology*. 2000 Jun;107(6):1111-24.
24. Study of conjunctival goblet cell morphology and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. Kozobolis VP, Christodoulakis EV, Naoumidi II, Siganos CS, Detorakis ET, Pallikaris LG. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004 Jun;242(6):478-83. Epub 2004 May 11.
25. INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA (10ª ED.) de PARSLOW, TRISTRAM G. y STITES, DANIEL P. y TERR, ABBA I.

13. ANEXOS

Anexo 1. Historia clínica

ASOCIACIÓN DE NIVELES DE OXIDO NITRICO EN PACIENTES CON SINDROME DE PSEUDOEXFOLIACIÓN, EN COMPARACIÓN CON PACIENTES SANOS
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN
Historia Clínica

1. Ficha de identificación

Nombre _____ Edad _____
 Sexo _____ Teléfono _____ Ocupación _____
 Origen _____ residencia _____
 Expediente _____ Elaboración ____/____/____

2. Antecedentes

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLOGICOS

Baño _____ Habitación _____
 Tabaquismo Alcoholismo Toxicomanías Deportes

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS

Transfusiones DM _____ años de evolución
 HAS _____ años de evolución
 Cardiopatía (especificar) _____
 Cirugías _____
 Otros _____

OFTALMOLOGICOS

Glaucoma
 Quirúrgicos

Tratamiento
 Aplicación de láser
 Otros

EXPLORACIÓN OFTALMOLOGICA

AV OD CV
 AV OI CV

BMC:
 General

Estado de cristalino

Faquico Catarata Pseudofaco Afaco Sub-luxación

Signos de pseudoexfoliación

Capsula anterior de cristalino Esfinter pupilar

Faco/pseudofacodonesis Iridodonesis

PIO OD mmHg Excavación OD /10
 PIO OI mmHg Excavación OI /10

ELABORO: _____

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLINICA		
Lugar y Fecha	<u>México, DF</u>	
Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:		
ASOCIACIÓN DE NIVELES EN LAGRIMA DE OXIDO NITRICO EN PACIENTES CON SINDROME DE PSEUDOEXFOLIACIÓN, EN COMPARACIÓN CON PACIENTES SANOS.		
Registrado ante el Comité Local de Investigación o la CNIC con el número:	245.2010	
El objetivo del estudio es:	Cuantificar y comparar los niveles en lagrima de oxido nítrico en los pacientes con Síndrome de Pseudoexfoliación y en Sujetos Sanos.	
Se me ha explicado que mi participación consistirá en:	<i>Permitir toma de lagrima en capilar para medición de niveles de oxido nítrico, cooperar con la exploración general y oftalmológica y asistir a valoraciones. Permitir toma de muestra en suero para medición de los niveles de INFγ y TNFα.</i>	
Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:		
<i>Riesgos: Ninguno. Molestias: Leve irritación ocular.</i>		
<i>Beneficios: Conocer los resultados del estudio, tanto en exploración general y oftalmológica, como en las mediciones que se lleven acabo así como recibir explicación clara y sencilla del significado de los resultados.</i>		
El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.		
Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.		
El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.		
<hr/> Nombre y firma del paciente		
<hr/> Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable.		
Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio:		
Testigos	Nombre y firma del paciente	Nombre y firma del médico

Anexo 3. Recursos Materiales

Recursos Materiales	
Cartilla de Snellen	Carta de lectura con opto tipos para toma de AV lejana a 6 metros de distancia
Lámpara de Hendidura	Lámpara con sistema de microscopio útil en consultorio para explorar segmento anterior y posterior ocular
Oftalmoscopio indirecto	Sistema óptico para explorar fondo de ojo en consultorio, se valora a detalle retina periférica y central
Lupa de 90 dioptrías	Lente requerido para el oftalmoscopio indirecto en la exploración.
Tonómetro de Goldman	Dispositivo para toma de presión intraocular.
Tetracaina tópica + fluoresceína	Anestésico tópico con tinción de fluoresceína necesario para la toma de presión intraocular
Reactivos para análisis de muestra	Otorgados por laboratorio.
Equipo médico para toma de muestra sanguínea	Jeringa 10ml, agujas de 20x22G, tubos de ensayo 5ml y gradilla
Libreta para recabar datos	Recopilación de datos personales de los pacientes, antecedentes, datos obtenidos en la exploración física y resultados.