



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA
“FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA”

**DETERMINACIÓN DE CITOCINAS EN SUERO DE PACIENTES CON
SÍNDROME DE PSEUDOEXFOLIACIÓN.**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE
OFTALMOLOGÍA**

PRESENTA
DR. JORGE ARMANDO CÓRDOVA CERVANTES

TUTOR DE TESIS
DR. VICTOR MANUEL BAUTISTA DE LUCIO

ASESOR DE TESIS
**DR. JESÚS ARRIETA CAMACHO.
QBP. MARIANA ORTIZ CASAS**

Facultad de Medicina



México, D.F.

2012



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.

INDICE

Introducción	3
Justificación	6
Hipótesis	6
Objetivo general	6
Objetivos Específicos	6
Diseño del Estudio	6
Material y Métodos	7
Variables del estudio	9
Análisis estadístico	9
Implicaciones éticas	10
Resultados	11
Discusión	14
Conclusión	16
Perspectivas	16
Bibliografía	17
Anexos	22

1.- Introducción.

La pseudoexfoliación es una enfermedad relacionada con la edad caracterizada por la producción de material extracelular en el segmento anterior del ojo y otros tejidos del cuerpo (2-4,12-14). A nivel ocular este material se deposita en el epitelio del cristalino, borde pupilar, ángulo irido corneal, procesos ciliares y zónula (2-4,12-14). Éste se asocia con pérdida de pigmento a nivel pupilar, así como del esfínter del iris y la parte media del mismo causando transiluminación (15). Algunos casos puede pasar desapercibida debido a la falta de dilatación pupilar o la falta de exploración bajo dilatación (16). Este padecimiento por lo general es bilateral, siendo muy asimétrico. En los casos unilaterales la progresión a bilateral ocurre en un 15 a 50% en un periodo de 5 a 10 años (13, 17-19).

Lindberg fue el primero en describir la pseudoexfoliación en 1917(1). El síndrome de pseudoexfoliación tiene una distribución a nivel mundial, afectando a hombres y mujeres(2-4). Habiendo un estimado de 70 millones de personas a nivel mundial con síndrome de pseudoexfoliación, sin embargo hay una mayor frecuencia en países de Escandinavia y Europa Oriental, todo tipo de población y raza es afectada con excepción del los Esquimos (5-10). Habiendo un aumento de la prevalencia con la edad: del 0.6% en aquellos con edad entre 52 y 65 años y de un 5% en aquellos con edad entre 75 y 85 años (11).

Etiológicamente el síndrome de pseudoexfoliación se ha asociado con glaucoma, catarata, dilatación pupilar pobre, debilidad zónular y complicaciones post operatorias.(15, 20-21), asociándose con un aumento de la presión intraocular (20). La debilidad zónular se manifiesta de forma clínica como iridodonesis, facodonesis, asimetría de la profundidad de la cámara anterior y hasta subluxación o dislocación del cristalino. (22-24)

Tabla 1. Síndrome de Pseudoexfoliación
Afección Oftalmológica

Tejido Involucrado	Signos clínicos tempranos	Complicaciones clínicas	Complicaciones quirúrgicas
Cristalino, cuerpo ciliar zónula	Capa precapsular difusa	Catarata nuclear	Ruptura zónula/diálisis
	Facodonesis	Facodonesis	Pérdida de vítreo
	Depósitos de PEX en zónula (UBM)	Luxación de cristalino	Ruptura de cápsula posterior
		Glaucoma de ángulo cerrado secundario a bloqueo pupilar y ciliar	Descentración del lente intraocular
			Fibrosis de la cápsula anterior Catarata secundaria
Iris	Atrofia peripupilar y transluminación en esfínter de iris. Dispersión de pigmento posterior a dilatación pupilar	Dispersión de pigmento Midriasis pobre Iris rígido	Miosis Hifema trans y postoperatorio
	Midriasis pobre, pupilas asimétricas	Alteración de la barrera hematoacuosa/Pseudo uveitis Hipoxia del segmento anterior	Inflamación en posoperatorio Ruptura prolongada de barrera hematoacuosa
		Sinequias posteriores	Sinequias posteriores y bloqueo pupilar
Malla trabecular	Depósitos de pigmento	Hipertensión ocular	Aumento de la PIO en postoperatorio
	Asimetría importante de PIO Aumento de la PIO posterior a dilatación pupilar	Glaucoma de ángulo abierto	
Córnea	Córnea guttata atípica	Descompensación endotelial Migración y proliferación endotelial	Descompensación endotelial
Polo Posterior		Oclusión venosa de retina	

Los estudios histopatológicos muestran que el material de pseudoexfoliación consiste de un componente fibrilar central integrado en una sustancia amorfa. La porción fibrilar está compuesta de amiloide, fibras elásticas, colágeno y membrana basal. Lo que puede representar una conformación de un desorden de fibrilina. (2, 17,25-29). En el caso de glaucoma, el material de pseudoexfoliación puede ser encontrado en el trabéculo y el tejido yuxtacanalicular. (29).

El material de pseudoexfoliación se ha encontrado también en corazón, pulmones, hígado, riñones, vaso, meninges, piel y vasos sanguíneos (2). Mostrando una similitud tanto ultraestructural como en la inmunohistoquímica de dicho material (34). Por lo que esta enfermedad se puede asociar con enfermedades sistémicas como sordera neurosensorial, hipertensión, enfermedades cardio/cerebrovasculares y Alzheimer.(30-32)

Se ha encontrado una asociación entre la pseudoexfoliación y una variante en la secuencia del DNA en el gen que codifica para LOXL1 (lisiloxidasa-like 1), una proteína responsable de la elastina. (33). Lo que sugiere que la etiología y patogénesis de la pseudoexfoliación puede ser multifactorial, envolviendo factores genéticos como ambientales. Algunos factores ambientales asociados al síndrome de pseudoexfoliación es el estrés oxidativo(35), se ha reportado un aumento de la homocisteína (Hcy) sérica en pacientes con glaucoma secundario a pseudoexfoliación (36-40) y se ha demostrado que la Hcy induce sobreproducción de radicales oxidativos (41-43). Otros factores ambientales que se han encontrado son algunas citocinas pro inflamatorias y factores de crecimiento, los cuales pudieran regular la expresión del gen LOXL1 (35). Una expresión irregular de citocinas pro inflamatorias, se han visto implicadas en la iniciación de varios desórdenes fibróticos y en la patofisiología del glaucoma (44). Hay estudios que han demostrado un aumento de IL-6 e IL-8 en humor acuoso en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación (44). Sin embargo no se demostró ningún aumento de dichas citocinas a nivel sistémico.

2.- Justificación

Se sabe que hay citocinas pro-inflamatorias elevadas en el humor acuoso de pacientes con síndrome de pseudoexfoliación. Sin embargo no se ha analizado ningún aumento de la concentración de citocinas a nivel sistémico en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación, siendo esto importante para la mejor comprensión de la patología y fisiología de dicho síndrome, ya que se sabe que tiene manifestaciones tanto oculares como sistémicas.

3.-Hipótesis

Los niveles séricos de citocinas en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación presentan una expresión diferencial en comparación con los niveles séricos de los pacientes control.

4.- Objetivo general:

Determinar los niveles de citocinas en suero en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación en comparación con pacientes control.

5.- Objetivos específicos

- Obtener las muestras de suero de los pacientes que cumplan los criterios de inclusión.
- Determinar la expresión de las citocinas en suero mediante microarreglos de proteínas.
- Realizar el análisis de la expresión diferencial de citocinas en pacientes con pseudoexfoliación comparado con pacientes control.

6.- Diseño del estudio

Es un estudio prolectivo, transversal, comparativo.

7.- Material y Métodos

7.1 Selección de pacientes

- Todos los pacientes tuvieron una revisión oftalmológica completa, incluyendo una exploración bajo dilatación en una lámpara de hendidura, en busca de material de pseudoexfoliación.

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes con síndrome de pseudoexfoliación sin ningún tipo de patología sistémica agregada.
 - Pacientes control: Pacientes sanos sin ningún tipo de patología sistémica ni ocular de tipo inflamatorio.
 - Todos los pacientes deberán tener una evaluación de Medicina Interna donde conste no tener enfermedades sistémicas crónicas como hipertensión, DM, enfermedades renales, así como ningún dato de daño cardíaco en el electrocardiograma, ya que en estas patologías puede haber alteraciones en la expresión de las citocinas séricas.

- Criterios de exclusión:
 - Los pacientes con alguno de los datos de las patologías antes mencionadas.

- Criterios de eliminación:
 - Aquellos pacientes en los que la muestra fue insuficiente.

7.2 Se formaron dos grupos: un grupo control y un grupo de pacientes con síndrome de pseudoexfoliación. A todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión se les tomo una muestra sanguínea para determinar los niveles séricos de citocinas. La muestra se almaceno a -80 C hasta su análisis.

7.3 Se realizó la determinación de la concentración de las citocinas en suero mediante la técnica de microarreglos de proteínas utilizando un kit de: R&D System, Proteome Profiler, Human Cytokines Array Panel A.

Procedimiento de microarreglos de proteínas:

Se colocaron las membranas de celulosa (cada membrana de celulosa contiene 36 anticuerpos para citocinas impresas en duplicado) por separados en un recipiente, con el código hacia arriba. Se bloqueo la membrana con 2ml del buffer de amortiguación 4. Estas se incubaron a temperatura ambiente por una hora, con agitación constante.

Las muestras de suero se prepararon realizando un pool del grupo control (9 pacientes control, 100 µl de cada uno) y uno del grupo de pacientes con pseudoexfoliación (9 pacientes, 100µl de cada uno), a cada pool se le agrego 100µl de buffer 5 para tener un volumen final de 1ml en cada pool, posteriormente a cada pool se les agrego 0.5ml de buffer de amortiguación 4. A cada muestra se le agrego 15 µl del coctel de anticuerpos de detección, el cual se reconstituyo previamente con 100µl de agua desionizada. Se mezclaron e incubaron a temperatura ambiente por una hora.

Después del bloqueo, se aspiró el buffer de amortiguación 4 y se le agregaron las muestras preparadas, una en cada membrana. Se incubaron durante la noche a 4° C, los cuales se mantuvieron en agitación.

Pasado el tiempo de incubación las membranas se lavaron durante 10 minutos en movimiento con 20ml de Buffer para lavado a 1X, realizando el procedimiento por triplicado.

Se retiraron las membranas de los contenedores de lavado, drenándoles el exceso de líquido y recolocándolas en los contenedores, los cuales habían sido lavados previamente con agua desionizada y posteriormente a cada membrana se le agrego 2ml de estreptoavidina HRP diluido 1:2000. Se incubaron a temperatura ambiente en agitación por 30 minutos; se realizó nuevamente tres lavados con 20ml de solución buffer a 1X por 10 minutos cada uno.

Se realizo la quimioluminiscencia colocando las membranas en un protector de papel de plástico, con el código hacia arriba, y agregando 1ml de preparado de reactivo para revelar, el cual se distribuyó de manera uniforme por toda la membrana. Dicho preparado se realizó al momento de ser utilizado, mezclando el reactivo para revelar 1 y 2 en volúmenes iguales, protegiéndolos de la luz. Se cubrieron las membranas con la parte superior del

protector plástico, teniendo cuidado de no tener burbujas de aire e incubándose por un minuto a temperatura ambiente. Posteriormente se retiró el exceso de reactivo con papel y se volvieron a cubrir las membranas con el protector de papel.

Finalmente los microarreglos se analizaron con quimioluminiscencia (GE Healthcare, UK), y los patrones fueron capturados por medio del fotodocumentador Dyversity System (Syngene, UK) y analizados con el software Gene Tools (Syngene, UK). La densitometría del patrón fue normalizada con respecto al control interno.

7.4 Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante una prueba de T Student con el programa Excel. Se considero un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo

8.- Tamaño de Muestra

Se incluyeron un total de 9 pacientes de cada grupo.

9.- Variables del estudio

- Concentraciones de citocinas en suero en pacientes sanos
- Concentraciones de citocinas en suero en los pacientes con síndrome de pseudoexfoliación.

10.- Análisis estadístico

Se realizó un análisis de t de Student entre los dos grupos para comparar los resultados de concentración de citocinas. Se considero un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

11.- Aspectos éticos.

Los pacientes a los que se les tomaron las muestras sanguíneas, firmaron un consentimiento informado (Apendice 1), de manera voluntaria, donde se les explico el motivo y uso de la muestra que se tome.

12.- Resultados

Se incluyeron un total de 18 muestras, 9 de pacientes control (n=9) y 9 de pacientes con pseudoexfoliación (n=9). En el grupo de pacientes control se incluyeron a un total de 4 mujeres y 5 hombres, con un rango de edad de 71 a 80 años, con un promedio de 75 años. En el grupo de pacientes con pseudoexfoliación se incluyeron 6 mujeres y 3 hombres, con un rango de edad de 73 a 81 años, con un promedio de edad de 76.4 años.

Se analizaron un total de 36 citocinas en las muestras de suero de los pacientes de los dos grupos. El análisis de proteínas se citocinas séricas se realizó mediante microarreglos de proteínas (Figura 1), los cuales contiene anticuerpos por duplicado para 36 citocinas las que se muestran en la tabla 1.

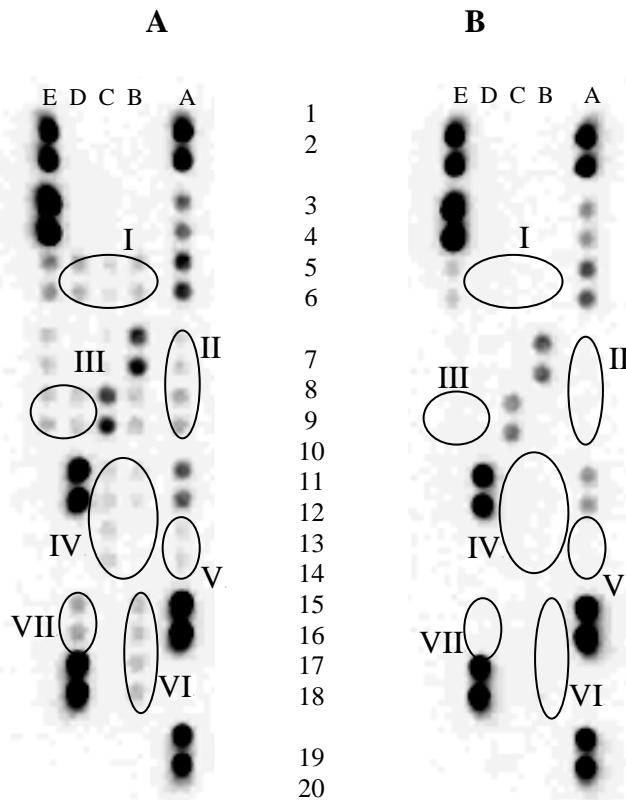


Figura 1. Microarreglos de expresión de citocinas séricas. A) Perfil de expresión en pacientes control. B) Perfil de expresión en pacientes con pseudoexfoliación. I) D5/D6: IP-10, C5/C6: IL-12p70, B5/B6: IL-1 β . II) A7/A8: G-CSF, A9/A10: GM-CSF. III) E9/E10: Strem-1, D9/D10: MCP-1. IV) C11/C12: IL-17, B11/B12: IL-4, D13/D14: MIP-1 α , V) A13/A14: I-309. VI) B15/B16: IL-6, B17/B18: IL-8. VII) D15/D16: MIP-1 β

Tabla 1. Lista de citocinas estudiadas

Citocinas	Coordinador	Citocinas	Coordinador
C5/c5a	A3, A4	IL-13	C7, C8
CD40Ligand	A5, A6	IL-16	C9, C10
G-CSF	A7, A8	IL-17	C11, C12
GMCSF	A9, A10	IL-17E	C13, C14
GRO α	A11, A12	IL-23	C15, C16
I-309	A13, A14	IL-27	C17, C18
sICAM-1	A15, A16	IL-32 α	D3, D4
INF- γ	A17, A18	IP-10	D5, D6
IL-1 α	A19, A20	I-TAC	D7, D8
IL-1 β	B3, B4	MCP-1	D9, D10
IL-1ra	B5, B6	MIF	D11, D12
IL-2	B7, B8	MIP-1 α	D13, D14
IL-4	B11, B12	MIP-1 β	D15, D16
IL-5	B13, B14	Serpin E1	D17, D18
IL-6	B15, B16	RANTES	E1, E2
IL-8	B17, B18	SDF-1	E3, E4
IL-10	C3, C4	TNF- α	E5, E6
IL-12p70	C5, C6	sTREM-1	E7, E8

Al analizar y comparar la expresión de estas citocinas en suero de los pacientes con pseudoexfoliación con los pacientes control se obtuvieron las expresiones relativas (Figura 2), en la que se observa que la mayoría de ellas se encuentra con una expresión disminuida con respecto a los pacientes control, con excepción de la IL- 1 α , IL-27 e IL 32 α las cuales se encuentran elevadas. Sin embargo, de estas interleucinas elevadas, solo la IL-1 α se encuentra con significancia estadística. El resto de las citocinas se encuentra con una expresión disminuida con respecto a los pacientes control, de las cuales es de llamar la atención la GMCSF, IP-10, MIP-1 β , las que se encuentran una menor expresión significativa: la GMCSF 1.4 veces, las IP-10 1.15 y las MIP-1b 1.07, todas estas estadísticamente significativo.

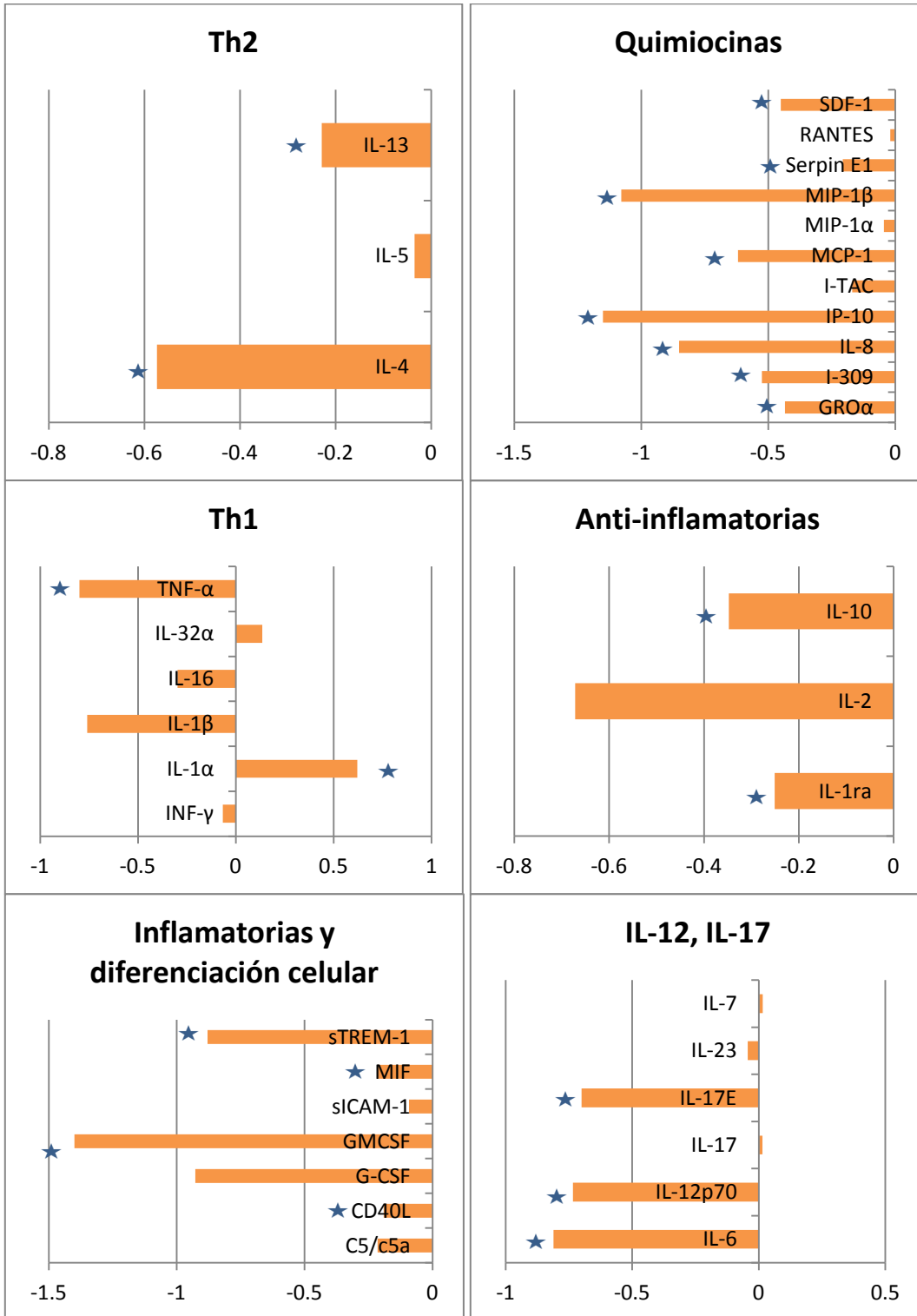


Figura 2. Expresión diferencial de citocinas en pacientes con pseudoexfoliación respecto a los pacientes control divididas por función. Con ★ las citocinas con una $p > 0.05$.

13.- Discusión

El objetivo de este estudio fue el analizar diversas citocinas en suero en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación y compararlos con pacientes control, ya que se sabe que este síndrome no solo tiene manifestaciones oculares, sino también algunas otras manifestaciones o enfermedades sistémicas (2-4,12-14).

En nuestro estudio se identificó una disminución generalizada de la expresión de citocinas en comparación con sujetos sanos. Se estudiaron seis principales grupos de citocinas: Th2 (IL-4, IL-5, IL-13), quimiocinas (GRO α , I-309, IL-8, IP-10, I-TAC, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , Serpin, RANTES, SDF-1), Th1 (IFN-g, IL-1 α , IL-1 β , IL-16, IL-32 α , TNF- α), Anti-inflamatorias (IL-1ra, IL-2, IL-10), inflamatorias y de diferenciación celular (c5/c5a, CD40L, G-CSF, GM-CSF, sICAM-1, MIF, sTREM-1) y familia IL-12, IL 17 (IL-6, IL-12p70, IL-17, IL-17E, IL-23, IL-27), todos estos con algunas citocinas disminuidas de manera significativa (Tabla 1, Figura 2).

Dentro de las citocinas que se encontraron disminuidas con mayor importancia están a las MIP-1 β (por sus siglas en ingles Macrophage Inflammatory Protein) y la IP-10 que pertenecen al grupo de las quimiocinas, y la GMCSF (por sus suglas en ingles Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor) que pertenece al grupo de las citocinas inflamatorias y de diferenciación celular.

La MIP-1 β , también llamada CCL4, pertenece a la familia de las citocinas de quimiocinas. Esta es producida por macrófagos después de ser estimulados con endotoxinas bacterianas. Esta citocina activa a los neutrófilos, eosinófilos y basófilos, conducen a una inflamación neutrofílica aguda. Además inducen la síntesis y liberación de otras citocinas pro- inflamatorias como la IL-6 y el TNF- α que en este caso se encontraron disminuidos de manera significativa, además de la IL-1 la cual es la única de las citocinas estudiadas que se encontró elevada de manera significativa (46)

Otra citocina que se encontró disminuida de manera importante y estadísticamente significativa fue la IP-10, la cual también pertenece al grupo de las quimiocinas, también nombrada CXCL10, esta es secretada por diversos tipos celulares como monocitos, células

endoteliales y fibroblastos en respuesta a INF- γ esta citocina se encontró disminuida pero no fue estadísticamente significativa. A esta citocina se le han atribuido varias funciones, tales como la quimiotaxis de los monocitos y las células T, así como la angiogenesis.

La tercera citocina que se encontró disminuida en este estudio fue la GMCSF, esta es una citocina inflamatoria y de diferenciación celular (47-48). Esta se produce como una respuesta a estímulos inmunes o inflamatorios por células activadas del sistema hematopoyético como células T, células B, macrófagos, mastocitos, fibroblastos entre otros. GMCSF desempeña un papel en la regulación, proliferación, diferenciación, supervivencia y activación de células hematopoyéticas como granulocitos, monocitos, neutrófilos, basófilos y eosinófilos, así como células T (49-50)

Por último, la única citocina que se encontró aumentada de manera significativa fue la IL-1 α , perteneciente al grupo de las Th-1, está involucrada en la respuesta inflamatoria, estimulando la liberación de prostaglandinas y colagenasa, esta interleucina es producida por macrófagos activados al transformar la IL- β producida por los monocitos en IL-1 α . Otros sitios de producción de esta interleucina son las células endoteliales y células epiteliales de timo y la córnea ambas pudiendo tener algún tipo de relación con el síndrome de pseudoexfoliación. La IL- α 1 estimula la liberación de IL-2 la cual se encuentra con una expresión disminuida, sin embargo esta es una de las pocas que se encuentran disminuidas sin tener una significancia estadística (tabal 1), además inducir la maduración y proliferación de células B y la activación del factor de crecimiento fibroblástico. Otra forma de actuar de esta interleucina es por medio de la IL-6 y la IL-8 las cuales en nuestro estudio se encuentran disminuidas de manera estadísticamente significativa. Sin embargo hay estudios que han demostrado un aumento de estas dos interleucinas en el humor acuoso (44). En cuanto al uso clínico de esta interleucina tenemos que se ha encontrado que puede ser un factor patogénico en los procesos que conducen a la oclusión vascular y un importante indicador *in situ* de lesión vascular. Estando constantemente presente en los vasos con esclerosis de manera histopatológica en los pacientes a los que se les ha tenido que realizar un bypass coronario.

Con lo resultados anteriores podría entenderse que el síndrome de pseudoexfoliación es un enfermedad de en la que se presenta una disminución generalizada

de las citocinas estudiadas lo que podría significar que en este síndrome no hay algún proceso infeccioso activo o es de carácter inflamatorio agudo, pudiendo ser una patología de envejecimiento, sin embargo al encontrar exclusivamente la IL-1 α elevada, podríamos estar hablando de un proceso inflamatorio crónico, en el que esta citocina podría estar siendo producida de manera local, crónica y muy elevada a nivel ocular, pudiendo pasar ciertos niveles de la misma a nivel sistémico, como ha sido propuesto y demostrado en otros estudios, de patologías que involucran daño ocular-sistémico (50), y de esta manera poder causar un mayor riesgo de enfermedades vasculares en estos pacientes, debido a su presencia sistémica de forma crónica.

14.- Conclusión

Los niveles séricos de citocinas en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación presentan una expresión diferencial en comparación con los niveles séricos de los pacientes control, mostrando una expresión diferencial disminuida de las citocinas encargadas de los procesos agudos e infecciosos, con una elevación única de la IL-1 α lo que sugiere que se trata de un proceso inflamatorio crónico.

15.- Perspectivas:

Realizar la determinación de citocinas a partir del humor acuoso de los pacientes con síndrome de pseudoexfoliación para correlacionarlo con los niveles de citocinas encontrados en suero y de esta manera establecer una asociación oculo-sistémica.

16.- Bibliografía

1. Lindberg JG. Kliniska underesokningar over depigmenteringen av pupillarranden och genomlysbarheten av iris vid fall av aldeersstrarr samt I normala ogon hos gamla personer. [Clinical studies of depigmentation of the pupillary margin and transillumination of the iris in cases of senile cataract and also in normal eyes of the aged]. Thesis, Helsinki, Finland, Helsinki University, 1917.
2. Ritch R, Schlotzger-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:265–315
3. Naumann GOH, Schlotzger-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist; intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology* 1998; 105:951–968
4. Ritch R. Exfoliation syndrome: what we know now. *Glaucoma Topics and Trends* 2006; 4:1–4
5. Kaljurand K, Puska P. Exfoliation syndrome in Estonian patients scheduled for cataract surgery. *Acta Ophthalmol Scand* 2004; 82:259–263. Available at: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/120093429/PDFSTART>. Accessed January 31, 2009
6. Young AL, Tang WWT, Lam DSC. The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people. *Br J Ophthalmol* 2004; 88:193–195
7. Allingham RR, Loftsdottir M, Gottfredsdottir MS, Thorgeirsson E, Jonasson F, Sveirsson T, Hodge WG, Damji KF, Stefa'nsson E. Pseudoexfoliation syndrome in Icelandic families. *Br J Ophthalmol* 2001; 85:702–707
8. Foster PJ, Seah SKL. The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people: the Tanjong Palgar survey [letter]. *Br J Ophthalmol* 2005; 89:239–240
9. Aasved H. The geographical distribution of fibrilloglucosaminoglycan epitheliocapsularis, so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation of the anterior lens capsule. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1969; 47:792–810
10. Thygesen J. Prevalence and distribution of exfoliation syndrome. *Glaucoma Topics Trends* 2006; 4:5–6
11. Hiller R, Sperduto RD, Krueger DE. Pseudoexfoliation, intraocular pressure, and senile lens changes in a population-based survey. *Arch Ophthalmol* 1982; 100:1080–1082.

12. Prince AM, Ritch R. Clinical signs of pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology* 1986; 93:803–807
13. Sampaolesi R, Zarate J, Croxato O. The chamber angle in exfoliation syndrome. Clinical and pathologic findings. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988; 184:48–53
14. Stewart JF, Jay JL. Pseudoexfoliation material on an acrylic lens [letter]. *Br Ophthalmol* 1995; 79:1050–1051
15. Bradford J, Shingleton, Alan S, Crandall, Iqbal Ike K, Ahmed. Pseudoexfoliation and the cataract surgeon: Preoperative, intraoperative, and postoperative issues related to intraocular pressure, cataract, and intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35:1101-1120
16. Crittendon JJ, Shields MB. Exfoliation syndrome in the Southeastern United States. II. Characteristics of patient population and clinical course. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988; 184:103–106
17. Streeten BW, Li Z-Y, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA. Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1992; 110:1757–1762
18. Puska PM. Unilateral exfoliation syndrome: conversion to bilateral exfoliation and to glaucoma: a prospective 10-year followup study. *J Glaucoma* 2002; 11:517–524
19. Tarkkanen A, Kivela T. Cumulative incidence of converting from clinically unilateral to bilateral exfoliation syndrome. *J Glaucoma* 2004; 13:181–184
20. Ritch R. Exfoliation the most common identifiable cause of open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 1994; 3:176–178
21. Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GOH. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome [perspective]. *Am J Ophthalmol* 2006; 141:921–937
22. Lumme P, Laatikainen L. Exfoliation syndrome and cataract extraction. *Am J Ophthalmol* 1993; 116:51–55
23. Kuchle M, Viestenz A, Martus P, Handl A, Junemann A, Naumann GOH. Anterior chamber depth and complications during cataract surgery in eyes with pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 2000; 129:281–285
24. Lim MC, Doe EA, Vroman DJ, Rosa RH Jr, Parrish RK II. Late onset lens particle glaucoma as a consequence of spontaneous dislocation of an intraocular lens in pseudoexfoliation

25. Parekh P, Green WR, Stark WJ, Akpek EK. Electron microscopic investigation of the lens capsule and conjunctival tissues in individuals with clinically unilateral pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology* 2008; 115:614–619
26. Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M, Naumann GO. Electron microscopic identification of pseudoexfoliation material in extrabulbar tissue. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:565–570
27. Schlotzer-Schrehardt U, Koca MR, Naumann GOH, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome: ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 1992; 110:1752–1756
28. Hammer T, Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GOH. Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study. *Arch Ophthalmol* 2001; 119:1023–1031
29. Conway RM, Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M, Naumann GOH. Pseudoexfoliation syndrome: pathological manifestations of relevance to intraocular surgery. *Clin Exp Ophthalmol* 2004; 32:199–210
30. Yazdani S, Tousi A, Pakravan M, Faghihi A-R. Sensorineural hearing loss in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology* 2008; 115:425–429
31. Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *AmJ Ophthalmol* 1997; 124:685–687
32. Janciauskiene S, Krakau T. Alzheimer's peptide: a possible link between glaucoma, exfoliation syndrome and Alzheimer's disease [letter]. *Acta Ophthalmol Scand* 2001; 79:328–329. Available at: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119025126/PDFSTART>. Accessed January 31, 2009
33. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB, Gudbjartsson DF, Stefansson H, Jonsson T, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Stefansdottir G, Masson G, Hardarson GA, Petursson H, Arnarsson A, Motallebipour M, Wallerman O, Wadelius C, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Jonasson F, Stefansson K. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007; 317:1397–1400
34. Gottfried O. H. Naumann, Ursula Schlotzer-Schrehardt, Michael Kuchle. Pseudoexfoliation Syndrome for the Comprehensive Ophthalmologist Intraocular and Systemic Manifestations. *Ophthalmology* 1998; 105:957-968.

35. Ursula Schlotzer-Schrehardt. Genetics and Genomics of Pseudoexfoliation Syndrome/Glaucoma. Middle East African Journal of Ophthalmology 2011;18.
36. Bleich S, Jünemann A, Von Ahsen N, Schöltzer-Scherland U, Beck G, Naumann GOH, Kornhuber J. Homocysteine and risk of open angle glaucoma. J Neural Transm 2002, 109:1499-1504.
37. Leibovitch I, Kurtz S, Shemes G, Goldstein M, Sela BA, Lazar M, Lowenstein A: Hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliative glaucoma. J Glaucoma 2003, 12:36-39.
38. Vessani RM, Ritch R, Liebmann JM, Joffe M: Plasma homocysteine is elevated in patients with exfoliative syndrome. Am J Ophthalmol 2003, 136:41-46.
39. Puustjarvi T, Blomster H, Kontkanen M, Punnonen K, Terasvirta M: Plasma and aqueous humour levels of homocysteine in exfoliation syndrome. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2004, 42:749-54.
40. Altintas O, Maral H, Yuksel N, Karabas VL, Dillioglugil MO, Caglar Y: Homocysteine and nitric oxide levels in plasma of patients with pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma, and primary open-angle glaucoma. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2005, 43(7):677-83.
41. Tongabay Cumurcu, Semsettin Sahin and Erdinc Aydin. Serum homocysteine, vitamin B 12 and folic acid levels in different types of glaucoma. BMC Ophthalmology 2006, 6:6
42. Finkelstein JD: The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. Eur J Pediatr 1998, 157:40-44.
43. Brunelli T, Prisco D, Fedi S, Rogolino A, Farsi A, Marcucci R, Giusti B, Pratesi C, Pulli R, Gensini GF, Abbate R, Gensini GF: High prevalence of mild hyperhomocysteinemia in patients with abdominal aortic aneurysm. J Vasc Surg 2000, 32:531-536.
44. Matthias Zenkel, Piotr Lewczuk, Anselm Junemann, Friedrich E Kruse, Gottfried O.H. Naumann and Ursula Schlotzer-Schrehardt. Proinflammatory Cytokines are involved in the Initiation of the Abnormal Matrix Process in Pseudoexfoliation Syndrome/Glaucoma. Am J Pathol 2010, 176:2868-2879.
45. Colobran R., Juan M. Confusion between CCL4 and CCL41: An example to bear in mind when using third-party reagents. Immunologia Vol. 26 / Num 1/ Enero-Marzo 2007:
46. Carreño LJ, Pacheco R, Gutierrez MA, Jacobelli S, Kalergis AM. Disease activity in systemic lupus erythematosus is associated with an altered expression of low-affinity Fc gamma receptors and costimulatory molecules on dendritic cells. Immunology. 2009

Nov;128(3):334-41.

47. Zhifang Zhang, John E. Shively. Generation of Novel Bone Forming Cells (Monoosteophils) from the Cathelicidin-Derived Peptide LL-37 Treated Monocytes. PLoS One. 2010; 5(11): e13985.

48. Kim E, Kim SH, Kim S, Cho D, Kim TS. AIMP1/p43 protein induces the maturation of bone marrow-derived dendritic cells with T helper type 1-polarizing ability. J Immunol. 2008 Mar 1;180(5):2894-902.

49. Bonder CS, Sun WY, Matthews T, Cassano C, Li X. et al. Sphingosine kinase regulates the rate of endothelial progenitor cell differentiation. Blood. 2009 Feb 26;113 (9):2108-17.

50. Jimenez-Martinez, F Cruz, Groman-Lupa, J.C. Zenteno. Immunophenotyping in peripheral blood mononuclear cells, aqueous humor and vitreous in a BLAU syndrome patient caused by a novel NOD2 mutation. International Journal of Immunogenetics.

17.- Apéndices

APENDICE 1: Consentimiento Informado



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

En el Instituto de Oftalmología se está llevando a cabo el protocolo de investigación denominado " Determinación de citocinas pro-inflamatorias en suero, en pacientes con síndrome de pseudoexfoliación, comparado con un grupo control ", en el cual se analizara la fisiología de diversas citocinas en el síndrome de pseudoexfoliación y su relación a nivel sistémico, el cual hasta el momento se desconocen, el protocolo consiste en analizar el suero de pacientes sanos y compáralos con pacientes que tiene síndrome de pseudoexfoliación, para de esta manera poder realizar una comparación entre estos dos tipos de pacientes.

Se le invita a usted a participar donando una muestra de sangre la cual será tomada al momento en que lo canalicen para realizarle su cirugía de catarata. Es importante recalcar que la toma de sangre no interferirá en el pronóstico ni resultado de su cirugía y el materia de sangre no utilizada se desechara de manera inmediata.

El beneficio que se obtendrá es principalmente la contribución a la ciencia.

No hay ningún riesgo asociado a dicha toma.

Procedimiento: El día de la cirugía se tomará la muestra de sangre al momento en que lo canalicen, el cual será centrifugado, para la toma de suero, el cual se

congelarán para su posterior análisis. Le restante será desechado de manera inmediata.

Su nombre se mantendrá en el total anonimato.

Cualquier duda o aclaración puede comunicarse con los responsables del protocolo de investigación.

Dr. Jorge Armando Córdova Cervantes
Residente de 3er año de Oftalmología

Tel. (044) 55 23316023

Dr. Víctor M. Bautista de Lucio
Investigador titular

Tel. (044) 55 40723813

Unidad de Investigación
4º Piso
Microbiología y Proteómica Ocular

Nombre completo y
Firma del Aceptante

Testigo 1

Testigo 2

Nombre completo y Firma

Nombre completo y Firma

APENDICE 2 Hojas de recolección de datos.

	Control	C037					
Nombre	Numero control	Edad	Genero	Diabetes	HAS	Dislipidemia	EKG
SUSANA NEIRA ROCHE	c1	72	F	No	No	No	Normal
LUCIA GALICIA SANCHEZ	c2	72	F	No	No	No	Normal
ERNESTO ROMERO JUAREZ	c8	77	M	No	No	No	Normal
AURORA CUELLAR CORDOVA	c11	71	F	No	No	No	Normal
LIBRADO GARCIA GARCIA	c12	71	M	No	No	No	Normal
EDELIO LUEGAS BARROSO	c13	80	M	No	No	No	Normal
ANTONIO GERVACIO CRUZ	c18	79	M	No	No	No	Normal
SARAHÍ CRUZ MORALES	c20	73	F	No	No	No	Normal
JOSE SERRANO GLORIA	c23	80	M	No	No	No	Normal

	PEX	C038					
Nombre	Numero control	Edad	Genero	Diabetes	HAS	Dislipidemia	EKG
MAXIMILIANA VILLEGAS MARTINEZ	c3	81	F	No	No	No	Normal
TERESA MIGUEL	c6	73	F	No	No	No	Normal
FELIPA SANTIAGO GARCIA	p1	78	F	No	No	No	Normal
SEBASTIANA PACHECO MONROY	p2	75	F	No	No	No	Normal
PEDRO MARTINEZ JOAQUIN	p3	77	M	No	No	No	Normal
FRANCISCO SANABRIA CORTES	p4	74	M	No	No	No	Normal
DEMETRIO COTONIETO ALVAREZ	p5	79	M	No	No	No	Normal
ESPERANZA JIMENEZ GARCIA	p6	76	F	No	No	No	Normal
MARIA TERESA CIGALES FLORES	p7	75	F	No	No	No	Normal