

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P
DEPARTAMENTO DE MICROCIURUGÍA DEL SEGMENTO ANTERIOR

**ANÁLISIS DE CITOCINAS EN MATERIAL CRISTALINO DE
CATARATA DIABÉTICA Y SENIL**

TÉSIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA:

DR. MANUEL GARCIA GARCIA

ASESOR DE TESIS:

DRA. CLAUDIA PALACIO PASTRANA

DRA. CAROLINA OREA ORTEGA

M. EN C. ATZIN ROBLES CONTRERAS

CD. MÉXICO DF

ENERO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DRA. CAROLINA OREA ORTEGA

ADSCRITO DEL DEPARTAMENTO DE SEGMENTO ANTERIOR
FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P.

M. EN C. ATZIN ROBLES CONTRERAS

INVESTIGADORA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P.

DR. ALEJANDRO BABAYAN SOSA

JEFE DE ENSEÑANZA

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P.

DR. JAIME LOZANO ALCÁZAR

PROFESOR TITULAR DE LA UNAM

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P.

DR. OSCAR BACA LOZADA

DIRECTOR MÉDICO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ I.A.P.

Agradecimientos

En primer lugar deseo agradecer a mis padres Manuel y Josefina por darme la oportunidad de vivir y por educarme de la mejor manera que lo supieron hacer. Por brindarme su protección, su amor y apoyo. Porque me han acompañado en mis tropiezos y han celebrado mis triunfos, porque son mi ejemplo a seguir y parte de mi identidad.

A mi compañero de la infancia, mi amigo incondicional y de tiempo completo, mi mayor dolor de cabeza en ocasiones y a la vez mi fuente de energía, diversión y amor, mi hermano José Miguel, porque su forma de luchar por sus sueños es contagiosa y ha motivado mi persona.

A mis hijos, porque aunque aún no están conmigo, son mi mayor anhelo y todo lo que hago y planeo es en función de ello. Porque he tenido que sacrificar ese sueño, para que algún día puedan entrar a mi vida.

A mi abuelo Roberto, que me enseñaste que con perseverancia, entrega, alegría y disciplina se pueden lograr grandes cosas en la vida, te extraño abuelo.

A mi tío Toño por encaminarme, motivarme y apoyarme en el mundo de la medicina, a mi tía Alicia y mi tío Miguel Ángel por su buen consejo y corrección cuando lo necesité, a mi tío Hugo y mi tío Nacho por fomentarme esa creatividad, por tantos momentos de felicidad y aventura en mi vida.

A mis primos Ángel, Carmen, Hugo, Chepina, Pepe Toño, Toño y Daniel por su cariño, respeto y porque siempre hemos procurado no perder esa bonita amistad.

A mis amigos Iván González por su amistad su ejemplo y por siempre motivándome a ser mejor persona, a Iván Rosas por su apoyo, su amistad y ejemplo.

A mis amigos de Goals 90 y Be-Free, en especial a Norma Sotelo por compartir este regalo de vida, que me ha dejado solamente satisfacción, a Joel Barrita por abrirme las puertas de su casa y brindarme su amistad.

Al departamento de Investigación Biomédica por su apoyo, en especial a Atzin Robles Contreras, por sus enseñanzas y amistad.

ÍNDICE

Resumen.....	5
Abstract.....	6
Introducción.....	7
Marco teórico.....	8
Objetivo.....	9
Justificación.....	10
Material y métodos.....	11
Resultados.....	13
Discusión.....	14
Conclusión.....	16
Anexos.....	17
Referencias bibliográficas.....	19

RESUMEN

Introducción

La formación de catarata tipo senil es un proceso multifactorial, y la fisiopatogenia de la catarata diabética se debe a un acumulo de sorbitol intracristaliniano. Las citocinas son pequeñas proteínas de bajo peso molecular, responsables del control del sistema inmunológico. Su expresión es modificada por los cambios bioquímicos o por la exposición a un antígeno ó a los rayos UVB.

Materiales y Métodos

Se incluyeron un total de 38 cristalinios de 38 pacientes, 19 con catarata senil y 19 con catarata diabética, con rangos de edad similares y una dureza semejante. Los cristalinios se obtuvieron por cirugía de extracción extracapsular y se almacenaron a -80° C. Se determinaron las citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN γ y TNF α (Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit) y se midieron las proteínas por arreglo de perlas citométricas. Se usó la prueba de t de Student, una $p < 0.05$ fue estadísticamente significativa.

Resultados

Los resultados en este estudio muestran la presencia de citocinas en ambos grupos. En ninguno encontramos la expresión de IL-10, pero en ambos encontramos IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, IFN γ y TNF α . Se halló un incremento estadísticamente significativo de IL-6 en catarata diabética (3.96 ± 4.67 pg/mL) comparado con pacientes de catarata senil (1.49 ± 2.57 pg/mL).

Conclusión

La IL-6 presentó un incremento estadísticamente significativo en catarata diabética, demostrando un perfil proinflamatorio en catarata diabética, se necesitan más estudios para comprobar esta teoría.

ABSTRACT

Introduction

The development of senile cataract is a multifactorial process and the pathogenesis of diabetic cataract is due to an accumulation of sorbitol in lens. Cytokines are small proteins of low molecular weight, they controlled immune response. Their expression can be modified by biochemical changes or by exposure to an antigen or to UVB.

Materials and methods

A total of 38 lenses of 38 patients, 19 with senile cataract and 19 with diabetic cataract were included, both with similar age ranges and similar lens opacities. Lens was obtained by extracapsular extraction surgery and kept at -80°C . Cytokines IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN γ and TNF α were determined (Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit) and proteins were measured by cytometric bead array. We used a Student t test, $p < 0.05$ was statistically significant.

Results

The results in this study show the presence of cytokines in both groups. None find the expression of IL-10, in both groups we found IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, IFN γ and TNF α . A statistically significant increase of IL-6 in diabetic cataract (3.96 ± 4.67 pg/mL) compared with senile cataract patients (1.49 ± 2.57 pg/mL) was found.

Conclusion

The IL-6 showed a statistically significant increase in diabetic cataract, showing a proinflammatory profile in diabetic cataract, more studies are needed to test this theory.

INTRODUCCIÓN

La formación de catarata tipo senil es un proceso multifactorial, se ha propuesto que existe desequilibrio hidroelectrolítico con disrupción de las fibras cristaliniánas corticales, estrés osmótico, alteración química de las proteínas nucleares cristaliniánas, procesos de oxidación, glicosilación no enzimática, proteólisis, desamidación, fosforilación, carbamilación¹, radiación ultravioleta B², disminución de antioxidantes como el glutatión reducido³, acúmulo de calcio, aumento de la actividad de proteasas como calpains⁴ y la apoptosis de las células epiteliales.⁵

Por otro lado en la fisiopatogenia de la catarata secundaria a diabetes mellitus a diferencia de la catarata senil, se ha demostrado que existe una acumulación de sorbitol intracristaliniano, secundario a hiperglucemia y a su difícil difusión fuera del cristalino, provocando aumento de la presión osmótica, edema, rotura de fibras cristaliniánas, aciduria y proteólisis.⁶

MARCO TEÓRICO

Las citocinas son pequeñas proteínas solubles de bajo peso molecular. Se ha demostrado la producción de citocinas en algunas estructuras oculares como epitelio pigmentario de la retina, células de Müller, células epiteliales del cristalino, estroma, epitelio corneal y células epiteliales del cuerpo ciliar.⁷ Son responsables del control del sistema inmunológico.⁸ Las citocinas proporcionan un medio por el cual, las células pueden comunicarse entre sí uniéndose a su receptor ó a otro tipo de célula. Ejercen sus efectos a través de la iniciación de una cascada de señalización intracelular, que es importante en el control del desarrollo, la ejecución y la resolución de las respuestas inmunes⁹. Pueden actuar de manera endocrina, autócrina y parácrina.¹⁰ Se sabe que la expresión de las citocinas intraoculares puede ser modificada por los cambios bioquímicos de las propias células, por la exposición a algún antígeno¹¹ ó a los rayos UVB.¹²

Se han hallado citocinas en humor acuoso en enfermedades oculares como glaucoma primario de ángulo abierto,¹³ uveítis, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada a la edad,¹⁴ síndromes de pseudoexfoliación,¹⁵ catarata congénita,¹⁶ y posterior a algunos procedimientos como facoemulsificación y cirugía de extracción extracapsular.¹⁷

La apoptosis en células epiteliales cristalinas se encuentra elevada en pacientes con diabetes mellitus, con o sin retinopatía diabética.¹⁸ En estudios previos de nuestro grupo de investigación, encontramos, que la apoptosis estaba relacionada con la catarata senil, principalmente, se demostró que el TNFR1 se encontraba sobre expresado en cataratas seniles comparado con la expresión del mismo en cristalinos sanos.¹⁹ Esta reportado en la bibliografía que la sobreexpresión de este receptor (TNFR1A) esta mediado por citocinas.²⁰

OBJETIVO

Objetivo general

Evaluar la expresión de diferentes citocinas que estén probablemente relacionadas con la fisiopatogenia de la catarata.

Objetivo específico

Determinar el perfil de citocinas que actúan en material cristaliniario de cataratas seniles.

Determinar el perfil de citocinas que actúan en material cristaliniario de cataratas secundarias a diabetes mellitus.

JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud, la catarata es la principal causa de ceguera en el mundo.

Según el Vision Eye Intitute a través del Vision Problems in the U.S. 2008, la catarata afecta a más de 22 millones de estadounidenses mayores de 40 años y los costos médicos directos anuales por servicios de consulta externa, de hospitalización y de medicamentos recetados relacionados con el tratamiento de las cataratas, es en total de 6,8 billones de dólares.

En la actualidad no se cuenta con la posibilidad de intervenir en el desarrollo de la catarata, es por ello que gran parte de la investigación se ocupa en la manera de tratarla. Aunque se cuentan con diversas teorías que conllevan a la formación de catarata.

Aún no se analizado la presencia de citocinas inflamatorias en material cristaliniario, sin embargo la presencia de citocinas inflamatorias en humor acuoso ya ha sido demostrada en enfermedades como neovascularización coroidea y glaucoma.

Determinar la presencia de citocinas, en cataratas secundarias a diabetes mellitus, nos ayudará a contemplar o descartar un proceso inflamatorio en la fisiopatogénia de la formación de catarata secundaria a diabetes mellitus.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes. Se incluyeron un total de 19 cristalinicos de 19 pacientes con catarata senil rango de edad 58 a 84 años (Media 72.5 años) y 19 cristalinicos de 19 pacientes con catarata secundaria a Diabetes Mellitus tipo II en un rango de edad 46 a 84 años (Media 60 años), ambos grupos con mismo estadio de dureza cristaliniana (Clasificación LOCS III de NO5 NC 5, NO6 NC6, catarata brunesciente y catarata total hidratada núcleo duro).

Obtención de la muestra. Todos los pacientes fueron sometidos a cirugía de extracción extracapsular de catarata, bajo anestesia local asistida, bloqueo retrobulbar, asepsia, antisepsia, campos estériles, peritomía base fórnix, escarificación de Ténon, cauterización de vasos, surco escleral escalonado, paracentesis, azul de tripano, solución salina balanceada, viscoelástico, capsulotomía en sonrisa invertida, hidrodissección y rotación de núcleo, se amplía surco escleral, extracción de núcleo. Los núcleos fueron almacenados en tubos eppendorf de 1.5 mL con buffer de PVC a -80° C.

Extracción de proteínas. Se descongelaron los cristalinicos y fueron lisados con ayuda del *Tissue extraction reagent* (Invitrogen, CA, USA) y un coctel de inhibidor de proteasas (Sigma Aldrich, MO, USA). Los tejidos fueron homogeneizados con la ayuda de un mortero y un pistilo. El extracto total se recolectó en tubos eppendorf de 1.5 mL y se centrifugaron a 10,000 rpm durante 5 minutos, se recolectó el sobrenadante el cual contiene las proteínas totales y se almaceno a 80°C hasta su uso.

Determinación de citocinas solubles. IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN γ y TNF α (Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit, BD Biosciences, CA, USA) fueron medidas en el extracto proteico obtenido de las cataratas por medio de arreglos de perlas citométricas

(CBA, por sus siglas en inglés), siguiendo las instrucciones del proveedor (BD Biosciences). Los resultados fueron obtenidos con un citómetro de flujo FACS Canto II con el software FACS DIVA y posteriormente analizados con el software FCAP. Los límites de detección del Kit fueron los siguientes: IL-2, 2.6pg/mL; IL-4, 4.9pg/mL; IL-6, 2.4pg/mL; IL-10, 4.5pg/mL; IL-17A, 18.9pg/mL; IFN γ , 3.7pg/mL y TNF α , 3.8pg/mL.

Ética. Los tratados de la declaración de Helsinki se siguieron para el procesamiento de tejidos humanos. Este estudio fue aprobado por el comité de Ética en investigación del hospital.

Análisis estadístico. Se usó la prueba de t de Student para detectar diferencias significativas entre el grupo de catarata senil y el grupo de cataratas diabéticas y una $p < 0.05$ fue considerada una diferencia estadísticamente significativa.

RESULTADOS

De las 7 citocinas analizadas, encontramos lo siguiente: La IL-2 se presentó en ambos grupos, sin una diferencia estadísticamente significativa, en catarata senil encontramos (0.09 ± 0.26 pg/mL) y en catarata diabética (0.17 ± 0.52 pg/mL) ($p=0.3$). La IL-4 tampoco demostró diferencia estadísticamente significativa, en catarata senil hallamos (0.11 ± 0.26 pg/mL) y en catarata diabética (0.13 ± 0.32 pg/mL) ($p=0.4$). La IL-10, fue la única citocina que no se expresó en ningún tipo de catarata. La IL-17A, aunque se expresó en mayor cantidad en pacientes con catarata senil, (valores de 11.14 ± 15.47 pg/mL) contra (7.65 ± 9.61 pg/mL) en catarata diabética ($p=0.21$), esta diferencia, no fue estadísticamente significativa. El IFN γ tampoco representó diferencia significativa, (valores de 0.08 ± 0.32 pg/mL) en catarata senil, y (0.08 ± 0.32 pg/mL) en catarata diabética ($p=0.5$). El TNF α , tampoco fue estadísticamente significativo para ambos grupos, (con valores de 0.64 ± 0.80 pg/mL) en catarata senil y (0.50 ± 0.84 pg/mL) en catarata diabética ($p=0.30$). Los valores de las citocinas analizadas se resumen en la tabla 1.

Sin embargo para el caso de IL-6 se encontró una mayor concentración en pacientes con catarata por diabetes mellitus tipo 2 (3.96 ± 4.67 pg/mL) comparado con pacientes con catarata senil (1.49 ± 2.57 pg/mL). Esto significa que la IL-6 fue 2.65 veces mayor en material cristalino de pacientes diabéticos comparado con material cristalino de pacientes con catarata senil, lo que representa una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.03$). (Fig. 1).

DISCUSIÓN

La formación de catarata diabética y senil no se asocia a un proceso inflamatorio clásico, como el caso de uveítis que ya cuenta con estudios que lo demuestran.²¹ Dentro de nuestra revisión bibliográfica no se encontraron reportes previos de citocinas en material cristalino. Los resultados en este estudio muestran la presencia de citocinas en ambos grupos, en ninguno encontramos la expresión de IL-10, pero en ambos encontramos IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, IFN γ y TNF α . Hayashi demostró que en células epiteliales cristalinas (LECs por sus siglas en inglés) de pacientes con diabetes mellitus comparado con pacientes con catarata senil, él concluyó que existe mayor actividad de citocinas (IL-1 y TGF- β) en ojos diabéticos comparado con ojos normales.²² Nosotros encontramos predominio de IL-17A en catarata senil sobre la catarata diabética sin considerarse estadísticamente significativo. Sin embargo se halló un incremento estadísticamente significativo de IL-6 en catarata diabética sobre la senil pudiendo asociar nuestro hallazgo con el encontrado por Canataroglu y colaboradores, quienes compararon vítreo en pacientes con retinopatía diabética proliferativa con vítreo sano de cadáver, encontrando cifras elevadas de IL-6 en 85.7% de ojos diabéticos y ausencia de la misma en vítreo sano.²³ Así mismo Ohara, ha reportado mayores concentraciones de IL-6 en humor acuoso que en sangre en pacientes con retinopatía diabética.²⁴ La IL-6 es una citocina producida por diferentes estirpes celulares, la principal fuente son fibroblastos, células endoteliales y monocitos estimulados; los macrófagos, linfocitos T y B, granulocitos entre otros también producen IL-6 después de su estimulación.²⁵ La IL-6 tiene múltiples funciones, incluyendo la inducción del crecimiento y diferenciación de células B, producción de anticuerpos, inducción de diferenciación y proliferación de células T.²⁶ Nishi y colaboradores posterior a

una cirugía de catarata, cultivó la cápsula anterior con citocinas para evaluar la mitosis que estas inducían, demostró que la presencia de IL-1 incrementó la mitosis, IL-1ra disminuyó la mitosis, además reporta un aumento de la IL-6 posterior a la implantación del lente intraocular²⁷ y posterior a una inyección intravítrea.²⁸

Nuestros hallazgos en la elevación de IL-6 en catarata diabética, sugieren un perfil proinflamatorio, que no se encontró en pacientes con catarata senil. Se sabe que la IL-6 es inducida por la IL-1, incluso pueden actuar de manera sinérgica.²⁹ No pudimos evaluar la presencia de IL-1 pero suponemos que se encuentra más elevada en catarata diabética. Podemos intuir que la IL-6 de algún modo estimula a TNF α , y así al receptor TNFR1 para que proceda al desarrollo de la cadena de apoptosis, sin embargo necesitamos más estudios para comprobarlo. Con lo anterior se crea la perspectiva de poder intervenir en el desarrollo de la formación de catarata secundaria a diabetes mellitus tipo 2 mediante la intervención sobre la IL- 6 en procesos tempranos de la formación de catarata.

CONCLUSIÓN

La IL-6 presentó un incremento estadísticamente significativo en catarata diabética con respecto a catarata senil, posiblemente es uno de los primeros hallazgos que justifican la intervención de la inflamación en la formación de catarata diabética. Aunque son necesarios más estudios para comprobar esta teoría, podríamos utilizar la IL-6 como un biomarcador terapéutico.

ANEXOS

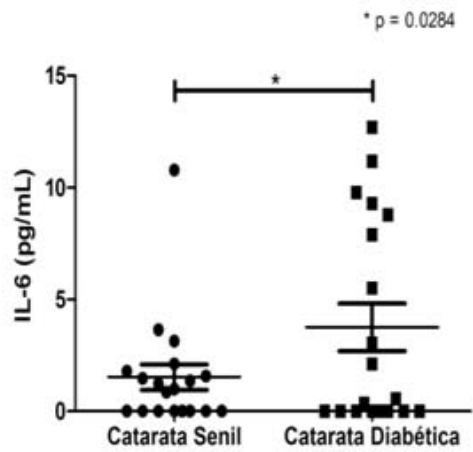


Fig. 1. Secreción de IL-6 en cataratas senil y diabética.

Fig. 1. Secreción de IL-6 en material cristalino de cataratas senil y diabética. Se observó un incremento en la concentración de IL-6 en el material cristalino de cataratas diabéticas comparado con cataratas seniles. Los valores se presentan en promedio \pm desviación estándar (pg/mL). Para la comparación entre los dos grupos se realizó una t de Student, considerándose una $p < 0.05$ como una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 1. Citocinas encontradas en cataratas seniles y por diabetes mellitus tipo 2.

Citocina	Catarata senil n=19	Catarata diabética n=19	Valor p
IL-2	0.22 ± 0.62	0.16 ± 0.51	0.3
IL-4	0.13 ± 0.26	0.12 ± 0.32	0.4
IL-6	1.53 ± 2.50	3.75 ± 4.63	0.03*
IL-10	0	0	-
IL-17^a	12.21 ± 15.74	8.08 ± 9.53	0.2
IFNγ	0.13 ± 0.38	0.07 ± 0.31	0.5
TNFα	0.72 ± 0.85	0.47 ± 0.82	0.3

Tabla 1. Citocinas analizadas en cataratas seniles y por diabetes mellitus tipo 2. Se incluyeron 19 cataratas por grupo. Los valores se presentan en promedio \pm desviación estándar (pg/mL). Para la comparación entre los dos grupos se realizó una t de Student, considerándose una $p < 0.05$ como una diferencia estadísticamente significativa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Raman Malhotra, Eye Essentials: Cataract Assessment, Classification and Management, London, Editorial Elsevier, 2007.
2. Hiromi Osada, Ypshino Yoshitake, et al. Ultraviolet B- induced expression of amphiregulin and growth differentiation factor 15 in human lens epithelial cells. Molecular vision 2011; 17: 159-169.
3. American Academy of Ophthalmology, Lens and Cataract. San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 2012.
4. Lee SM, et al, Protective effect of catechin on apoptosis of the lens epithelium in rats with N-methyl-N-nitrosourea-induced Cataracts, Korean J Ophthalmol 2010; 24(2): 101-7.
5. Li WC. The lens epithelium, apoptosis and cataract formation. Nova Acta Leopoldina 1997; 75: 81-108.
6. Palacio Pastrana, et al. Catarata diagnóstico y tratamiento. Distrito Federal Intersistemas. 2007.
7. Aize Kijlstra, The role of cytokines in ocular inflammation, British Journal of Ophthalmology 1994; 78: 885-887.
8. Julius Cruse et al, Immunology Guidebook, London, Editorial Elsevier, 2004.
9. Andrew E. Williams, Immunology: Mucosal and Body Surface Defence, publicado en línea, Editorial Wiley- Blackwell, 2011.
10. W R Meacock et al, Role of cytokines in the pathogenesis of posterior capsule opacification, Br J Ophthalmol 2000; 84: 332-336.
11. Sauer A et al, Intraocular levels of IL-17A and IL-10 as respective determinant

- markers of toxoplasmosis and viral uveitis. *Clin Vaccine Immunol* 2014; 21: 1601-1604.
12. Rittié L, Fisher GJ. UV-light induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 705-20.
13. Duan X, Xue P, Wang N, Dong Z, Lu Q, Yang F. Proteomic analysis of aqueous humor from patients with primary open angle glaucoma. *Mol Vis* 2010; 16: 2839-46.
14. Janciauskine S, Brandt L, Wallmark A, Westin U, Krakua T. Secreted leukocyte protease inhibitor is present in Fs from cataracts and other eye pathologies. *Exp Eye Res* 2006; 82: 505-11.
15. Zuhail Yildirim et al, The role of the cytokines in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome. *Int J Ophthalmol* 2013; 6(1): 50-53.
16. Pawel Banasiak, et al. Quantitative relationships between transforming growth factor beta mRNA isoforms in congenital and traumatic cataracts. *Molecular Vision* 2011; 17: 3025-3033.
17. Hamdi Er, MD et al. Effects of NG- nitro L- arginine and corticosteroids on aqueous humor levels of nitric oxide and cytokines after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 1999; 25: 794-799.
18. Kim B¹, Kim SY, Chung SK, Changes in apoptosis factors in lens epithelial cells of cataract patients with diabetes mellitus, *J Cataract Refract Surg* 2012; 38(8): 1376-81.
19. <http://abstracts.iovs.org/cgi/content/abstract/54/6/2973?sid=d2d2d4dd-0b9e-4fca-a86a-2d6ffcaf7fb8> Consultado 27 de noviembre del 2014.
20. Hao LN, et al. Puerarin decreases lens epithelium cell apoptosis induced partly by peroxynitrite in diabetic rats. *Sheng Li Xue Bao* 2006; 58(6): 584-92.

21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25431348> Consultado el 23 de noviembre de 2014.
22. Yoshie Hayashi, MD. Immunohistologic study of interleukin-1, transforming growth factor- β , and α -smooth muscle actin in lens apithelial cells in diabetic eyes. J Catarat Refract Surg 2005; 31: 2187-2192.
23. Hatice Canataroglu, et al. Interleukin 6, Interleukin 8, levels and cellular composition of the vitreous humor in proliferative diabetic retinopathy, proliferative vitreoretinopathy, and traumatic proliferative vitreoretinopathy. Informa Healthcare 2005; 13(5): 375-381.
24. Ohara K, et al, The role of cytokines in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Nippon Ganka Gakkai Zasshi 2001; 105: 213-217.
25. <http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?key=IL6> Consultado el 27 de noviembre del 2014.
26. Ralf Schindler, et al, Correlations and Interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in Human Blood Mononuclear Cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. Blood Journal 1990;75:40-47.
27. Okihiro Nishi, et al, Effects of the cytokines on the proliferation of and collagen synthesis by human cataract lens epithelial cells, British Journal of Ophthalmology 1996; 80; 63-68.
28. Okihiro Nishi, et al, Effects of the cytokines on the prostaglandin E₂ synthesis by lens epithelial cells of human cataract, British Journal of Ophthalmology 1995; 79; 934-938.
29. Heng Miao, Inflammatory cytokines in aqueous humor of patients with choroidal neovascularization. Molecular Vision 2012; 18: 574-580.