



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

CAMPAÑA DE DETECCIÓN OPORTUNA DE GLAUCOMA PRIMARIO DE
ÁNGULO ABIERTO EN POBLACIÓN ABIERTA MEXICANA PARA LA
VALIDACIÓN DE BIOMARCADORES SEROLÓGICOS PROTEÓMICOS

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGÍA

PRESENTA:
ALEYDA MOLINA LESPRON

TUTOR O TUTORES PRINCIPALES
DRA. FRANCISCA DOMÍNGUEZ DUEÑAS

CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE, 2018



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.

TÍTULO DEL PROYECTO:

“Campaña de detección oportuna de Glaucoma Primario de Ángulo de Abierto en población abierta mexicana para la validación de biomarcadores serológicos proteómicos.”

1. PARTICIPANTES:

Investigador Responsable:

Nombre	Francisca Domínguez Dueñas
R.F.C	DODF780819
Cargo	Subdirectora de Oftalmología
Servicio de adscripción	Oftalmología
División a la cual pertenece	Oftalmología
Extensiones telefónicas	18175
Dirección electrónica	fran_dd@yahoo.com
Grado máximo de estudios	Maestría en ciencias medicas
Disciplina	Oftalmología
Especialidad	Oftalmología
Pertenece al Sistema Interinstitucional de Investigación	No
Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores	Sí

Firma del investigador responsable: _____

Participante:

Nombre	Aleyda Molina Lespron
R.F.C	MOLA891110IL2
Cargo	Residente 3er año Oftalmología
Servicio de adscripción	Oftalmología
División a la cual pertenece	Oftalmología
Extensiones telefónicas	18132
Dirección electrónica	Aleyda_ml100@hotmail.com
Grado máximo de estudios	Médico cirujano
Disciplina	Oftalmología
Especialidad	Oftalmología
Pertenece al Sistema Interinstitucional de Investigación	No
Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores	No

Firma del participante: _____

Investigador en Instituto Nacional de Medicina Genómica:

Nombre	Juan Pablo Reyes Grajeda
R.F.C	REGJ
Cargo	Investigador en Ciencias Médicas D.
Servicio de adscripción	Instituto Nacional de Medicina Genómica. Unidad de Proteómica Médica.
División a la cual pertenece	Consorcio Estructura de Proteínas.
Extensiones telefónicas	5350-1900 ext.1125
Dirección electrónica	jreyes@inmegen.gob.mx
Grado máximo de estudios	Postdoctorado.
Disciplina	Biología, Bioquímica.
Especialidad	Proteómica.
Pertenece al Sistema Interinstitucional de Investigación	Nivel
Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores	Nivel I
Participación	Tutor del proyecto. Análisis proteómico.

Firma del participante: _____

2. DURACIÓN APROXIMADA DEL PROYECTO:

Inicio			Término				
Mes	Febrero	Año	2018	Mes	Febrero	Año	2019

3. TABLA DE CONTENIDO:

1	Título del proyecto.	Página 2
2	Participantes.	Página 2
3	Duración aproximada del proyecto.	Página 3
4	Tabla de contenido.	Página 4
5	Introducción	Página 5
6	Marco teórico	Página 6
7	Justificación	Página 10
8	Planteamiento del problema	Página 11
9	Pregunta de investigación	Página 11
10	Hipótesis	Página 12
11	Objetivos	Página 12
12	Metodología	Página 12
12.1	Diseño del estudio.	Página 12
12.2	Universo de trabajo.	Página 12
12.3	Criterios de inclusión.	Página 13
12.4	Criterios de eliminación.	Página 13
12.5	Criterios de exclusión.	Página 13
12.6	Tamaño de la muestra.	Página 13
12.7	Metodología y descripción de procedimientos.	Página 13
12.8	Variables del estudio.	Página 16
12.9	Análisis estadístico propuesto.	Página 18
13	Aspectos éticos.	Página 18
14	Infraestructura disponible.	Página 18
15	Resultados.	Página 20
16	Discusión.	Página 21
17	Bibliografía.	Página 23
18	Anexos.	Página 26

4. INTRODUCCIÓN:

El glaucoma primario de ángulo abierto es una neuropatía óptica progresiva multifactorial, y es una de las principales causas de ceguera irreversible en el mundo. El diagnóstico oportuno es fundamental para reducir la progresión a ceguera, y por ello en los últimos años se han volcado los esfuerzos para desarrollar estudios y tecnología que apunten a este propósito.

La búsqueda de biomarcadores moleculares para diagnóstico de glaucoma es un área de investigación emergente, y la proteómica está al centro de estas actividades. El estudio y comparación del proteoma en diferentes situaciones fisiológicas y patológicas permite tener una imagen dinámica de las proteínas expresadas en un momento dado y de esta manera identificar aquellas cuya presencia se correlaciona con determinados estadios patológicos. De esta manera es posible identificar proteínas para ampliar el conocimiento sobre los mecanismos moleculares de la enfermedad, el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, así como la identificación de potenciales biomarcadores para diagnosticar la enfermedad o pronosticar la evolución de la misma.

Aún con los conocimientos actuales sobre la fisiopatología involucrada en el desarrollo de glaucoma, no se han determinado y validado las moléculas capaces de funcionar como un biomarcador.

El objetivo de este proyecto es realizar un análisis proteómico del suero en pacientes con glaucoma y compararlo con controles sanos sin glaucoma, para identificar proteínas que puedan ser utilizadas como biomarcadores para diagnóstico temprano.

5. MARCO TEÓRICO

El glaucoma primario de ángulo abierto es una neuropatía óptica progresiva que se caracteriza por la muerte de las células ganglionares de la retina y sus axones que forman el nervio óptico. La consecuencia funcional es el deterioro progresivo del campo visual, que generalmente empieza en la periferia media superior y puede progresar a una visión tubular y ceguera en casos avanzados. Es una enfermedad poligénica y compleja desde el punto de vista genético, en cuyo origen intervienen múltiples factores y cambios epigenéticos.¹

El aumento de la presión intraocular (PIO) es el principal factor de riesgo y uno de los mecanismos fisiopatogénicos más estudiados;^{2,3} resulta del incremento de la resistencia al flujo de salida del humor acuoso a través del trabéculo, por cambios ultraestructurales en la matriz extracelular de la red trabecular.⁴⁻⁶ Otros factores de riesgo también descritos son la edad avanzada, la raza, el antecedente familiar de glaucoma, la miopía, grosor corneal central disminuido y la disminución de la presión de perfusión.¹

La fisiopatología de la muerte de las células ganglionares aún no se conoce por completo. De manera clásica existen dos teorías: la mecánica, en la cual se menciona que el aumento de la presión intraocular ocasiona un daño mecánico sobre la cabeza del nervio óptico causando interrupción del flujo axoplásmico a nivel de la lámina cribosa; el bloqueo del transporte axonal disminuye el aporte de factores neurotróficos necesarios para la vitalidad de las células neuronales, como por ejemplo, el factor de crecimiento derivado del cerebro. Esta deprivación de neurotrofinas dispara una cascada de eventos celulares que culminan en la apoptosis.⁷⁻⁹ La teoría vascular se basa en que existe una disfunción vascular a nivel de la microcirculación de la cabeza del nervio óptico, lo que ocasiona un daño por hipoperfusión.¹⁰ El ambiente de hipoxia promueve la liberación de radicales libres, óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno que generan un ambiente de estrés oxidativo que promueve la muerte celular.¹¹ La degeneración inicial de algunas células ganglionares provoca un ambiente de toxicidad por la liberación de glutamato excitotóxico lo cual genera daño celular secundario.¹²

Los astrocitos son la célula glial principal de la cabeza del nervio óptico, proporcionan el soporte tisular de los axones, estimulan la liberación de factores neurotróficos y antioxidantes y promueven la degradación de los depósitos extracelulares anormales de proteínas. De manera normal los astrocitos permanecen en un estado estable, pero pueden volverse reactivos en respuesta a una lesión o enfermedad y pueden exacerbar y propagar el daño al tejido neural. Se ha propuesto que el aumento de la presión intraocular puede promover la reactivación anormal de

la glia a nivel de la lámina cribosa del nervio óptico. El papel que juegan los astrocitos en la degeneración del tejido circundante se cree ocurre mediante la liberación de especies reactivas de oxígeno, proteasas, citoquinas y ácido nítrico.¹³ La disfunción del sistema inmunológico también se ha propuesto como uno de los mecanismos generadores del daño neurodegenerativo secundario a la reactivación glial. Una interacción compleja de acontecimientos celulares incluyendo activación/disfunción glial, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, y disfunción de la respuesta inmunológica, puede amplificar el proceso de daño primario y contribuir a la progresión de la neurodegeneración.^{14,15}

A pesar de todo el avance en el conocimiento de la fisiopatología del daño en glaucoma, aun no se conoce por completo la serie de mecanismos moleculares, celulares e intercelulares que van ocurriendo en cascada y terminan en la apoptosis de las células ganglionares de la retina.

Pruebas Diagnósticas

El diagnóstico de glaucoma se establece con la evidencia del daño estructural del nervio óptico y la evaluación de la función visual con el campo visual. Actualmente existen dos modalidades de pruebas diagnósticas, las funcionales y las estructurales.¹⁶ Las pruebas funcionales consisten en el examen del campo visual, evalúan la integridad y la función de la vía visual desde la capa de células ganglionares en la retina hasta la corteza visual; la perimetría automática estandarizada es la prueba funcional aceptada en consenso para el diagnóstico y estadificación del glaucoma.¹⁷ Las pruebas estructurales son estudios de imagen que evalúan de manera objetiva el disco óptico, la capa de fibras nerviosas y capa de células ganglionares; realizan mediciones cuantitativas de estas estructuras. La tomografía óptica coherente de dominio espectral es hoy en día el estudio estructural más aceptado para el diagnóstico de glaucoma (SD-OCT). La evidencia del daño estructural midiendo la pérdida de la capa de fibras nerviosas peripapilar y la capa de células ganglionares con SD-OCT actualmente se ha convertido en el estándar de referencia para el diagnóstico temprano de glaucoma.^{18,19}

Biomarcadores moleculares en glaucoma

Un biomarcador molecular es un parámetro que puede ser medido objetivamente y evaluado como indicador de un proceso fisiológico o patológico y cuyos requisitos fundamentales son una elevada especificidad y sensibilidad.²⁰ Se han propuesto diferentes tipos de biomarcadores moleculares de acuerdo a los mecanismos fisiopatológicos del glaucoma:

1. Biomarcadores de estrés oxidativo: se han encontrado en tejidos oculares y en sangre de pacientes con glaucoma, disminución de las defensas antioxidantes (Ácido ascórbico, vitamina D, Vitamina A) e incremento de moléculas pro-oxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, óxido nítrico, 8-hidroxi-2deoxiguanosina, malondialdehído).²¹

2. Biomarcadores de inflamación y mediadores inmunológicos. Se han reportado diferentes alteraciones en los mediadores de la respuesta inflamatoria e inmunológica en sangre, humor acuoso y tejidos oculares de pacientes con glaucoma, lo que sugiere una actividad anormal del sistema inmunológico. Se han encontrado autoanticuerpos contra antígenos de retina y nervio óptico en suero de pacientes con GPAA, así como niveles aumentados de factor de necrosis tumoral alfa, factor transformador de crecimiento beta, molécula de adhesión endotelial-1, interleucinas 1-alfa y 8 en humor acuoso de pacientes con glaucoma. El análisis proteómico de retina en ojos de pacientes con glaucoma, ha revelado expresión y regulación diferencial de componentes del complemento.²¹

3. Biomarcadores de moléculas pro-apotóticas. La apoptosis es la vía final común de muerte de las células ganglionares de la retina. Se han encontrado niveles elevados de mediadores de la apoptosis como las Caspasas 2, 8, 9, 10, 14, Bax (proteína de membrana mitocondrial reguladora de apoptosis), calcio, homocisteína y diadenosina tetrafosfato, en sangre de pacientes con glaucoma.²¹

Proteómica

El desarrollo de las ciencias genómicas y las diferentes tecnologías con aplicación biológica hacen posible el estudio de la información genética contenida en un organismo en distintos niveles: el estructural, que describe la secuencia de los nucleótidos que conforman un genoma; y el funcional, que analiza la expresión de los productos funcionales del gen, el ARN mensajero (transcriptoma) y las proteínas (proteómica). La proteómica es una rama de la genómica que estudia los proteomas, es decir todas las proteínas que se expresan a partir del genoma de un organismo. Es el estudio a gran escala de las proteínas, de su estructura, su localización, su función, y la cuantificación de su expresión.²² La descripción del proteoma permite tener una imagen dinámica de todas las proteínas expresadas en un momento dado y bajo determinadas condiciones concretas de tiempo y ambiente; de esta forma, se pueden encontrar proteínas cuya presencia o alteración se correlaciona con determinados estadios patológicos, ampliar el conocimiento sobre los mecanismos moleculares de la enfermedad, así como la identificación de potenciales biomarcadores con fines diagnósticos y/o pronósticos.²³

Proteómica y glaucoma

Estudios recientes de glaucoma usando técnicas de análisis proteómico han dado como resultado una lista de proteínas expresadas de forma diferencial en muestras de

pacientes con glaucoma y en modelos animales de glaucoma experimental. El análisis global de la expresión de proteínas en glaucoma ha sido seguido por un análisis del proteoma de células específicas como células del trabéculo, células ganglionares de la retina y astrocitos.²⁴

Duan y colaboradores estudiaron el proteoma diferencial en muestras de humor acuoso de 5 pacientes con GPAA que fueron sometidos a cirugía filtrante y lo compararon con 5 controles pareados sin glaucoma que se operaron de catarata. Utilizaron el método de Bradford para determinar la concentración total de proteínas en humor acuoso y analizaron el perfil de separación por electroforesis en gel de dos dimensiones. Usaron tinción de plata para evaluar las densidades de los spots y finalmente los péptidos fueron aislados e identificados por espectrometría de masas. Las proteínas en las que se observó incremento significativo en pacientes con glaucoma fueron Prostaglandina H2D-isomerasa, precursor de caspasa 14, transferina, Cysteina C y Transtiretina. Los autores concluyen que estas proteínas podrían ser potenciales biomarcadores para diagnóstico de GPAA.²⁵

El objetivo de un biomarcador para diagnóstico es ser obtenido mediante una técnica no invasiva, por esto la muestra de humor acuoso no es la ideal, pues implica una intervención quirúrgica con el riesgo potencial de complicaciones. La muestra de sangre es fácil de obtener y con riesgo mínimo, por lo tanto es la ideal. Con las técnicas actuales para depletar albumina e inmunoglobulinas que son las proteínas más abundantes, el hallazgo de proteínas en concentraciones proporcionalmente bajas es posible.

Tezel y colaboradores analizaron muestras serológicas de pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto, glaucoma de tensión normal y glaucoma secundario a pseudoexfoliación, en busca de biomarcadores serológicos. Mediante un análisis mediante 2D-LC-MS/MS, identificaron 325 proteínas, de las cuales sólo 22 estuvieron presentes en las muestras de pacientes con glaucoma. Las proteínas identificadas incluyeron mediadores inmunológicos y componentes de la señalización de muerte celular, los autores las proponen como potenciales biomarcadores. Debido a la evidencia del involucro del sistema inmunológico en el desarrollo del daño glaucomatoso, también realizaron un análisis inmunoproteómico serológico de pacientes con glaucoma con el objetivo de buscar anticuerpos contra antígenos específicos e identificaron una lista de proteínas antigénicas como biomarcadores candidatos. De estos candidatos se encuentran títulos elevados de forma significativa de 3 proteínas, AIF, CREB-binding protein y ephrina.²⁶

González Iglesias y colaboradores realizaron un análisis proteómico serológico en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto, glaucoma secundario a pseudoexfoliación y controles sanos, e identificaron 35 proteínas serológicas con expresión diferencial en los pacientes con glaucoma. Los autores proponen a 17 de

ellas como biomarcadores candidatos dentro de las que cabe señalar la apolipoproteína A-I, el complemento C3, y la serotransferrina.²⁷

Sin embargo estos estudios han sido realizados en pacientes bajo tratamiento farmacológico glaucomatoso, y es conocido que esto puede modificar el patrón de expresión proteica diferencial.

7. JUSTIFICACIÓN

El glaucoma primario de ángulo abierto es una de las principales causas de ceguera irreversible en el mundo y tiene una prevalencia del 2 al 4 % en mayores de 40 años.²⁸⁻³⁰ El hecho de que la pérdida visual producida por esta enfermedad es irreversible hace necesaria la búsqueda de métodos de detección precoz, así como el desarrollo biotecnológico de nuevas alternativas de tratamiento. En los últimos años se han volcado los esfuerzos para desarrollar estudios y tecnología que apunten a este propósito.

La búsqueda de biomarcadores para el diagnóstico de glaucoma es un área emergente de oportunidad en investigación. Con el avance hoy en día de las técnicas de proteómica como la espectrometría de masas y el desarrollo de la bioinformática y descripción del proteoma humano, se están identificando candidatos biomarcadores, sin embargo se requiere de estudios adicionales, en diferentes grupos poblacionales, que incluyan pacientes sin tratamiento, en diferentes estadios de la enfermedad, primordialmente en etapas tempranas, para identificar biomarcadores y validarlos en una muestra poblacional grande.²⁴

La identificación de las proteínas que intervienen en las diversas etapas de la enfermedad en diferentes grupos poblacionales ayudará a comprender las bases moleculares y la naturaleza de la patología; de igual modo, estas proteínas identificadas pueden utilizarse como biomarcadores de diagnóstico o pronóstico de la enfermedad, y por otro lado hace posible la identificación de nuevos blancos terapéuticos para un mejor diseño de fármacos.²⁴

La pérdida visual por glaucoma es irreversible, esto hace necesaria la búsqueda de métodos de detección temprana cuando la enfermedad es asintomática. El diagnóstico y tratamiento oportuno son fundamentales para cambiar la historia natural de la enfermedad y reducir la progresión a estadios avanzados, por ello se le ha considerado ceguera prevenible y en los últimos años se han volcado los esfuerzos para desarrollar estudios y tecnología que apunten a este propósito. La utilización de biomarcadores obtenidos por un método no invasivo podría ser una alternativa. Con el avance hoy en día de las técnicas de proteómica como la espectrometría de masas combinado con el

empleo de métodos de fraccionamiento y separación de péptidos y proteínas ya se han identificado potenciales candidatos biomarcadores para diagnóstico de glaucoma, sin embargo no se han realizado estudios clínicos en población para validarlos.¹³

8. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

Los estudios experimentales recientes han logrado muchos avances en la comprensión de la neurodegeneración glaucomatosa, sin embargo aún se desconocen los mecanismos moleculares claves que inician y propagan la lesión neuronal en las células ganglionares de la retina, así como la interacción entre las diferentes vías moleculares, y la contribución de cada una a la pérdida estructural y funcional.²⁴

Los métodos diagnósticos actuales en glaucoma tienen pobre sensibilidad y especificidad en etapas tempranas y están diseñados para detectar enfermedad cuando ya está presente un daño anatómico o funcional que es irreversible. Los estudios de imagen estructurales tienen la limitante de ser dependientes de operador, de requerir medios transparentes y no son confiables en variantes anatómicas normales de la disposición y tamaño del disco óptico como ocurre en pacientes con miopía o creciente escleral. Además, la disponibilidad de los equipos es limitada por su alto costo y no están accesibles en todos los centros médicos de salud en la población. Por otro lado, el campo visual tiene la limitante de depender del desempeño y la cooperación del paciente, es un estudio que requiere una curva de aprendizaje y para ciertos grupos etarios puede ser difícil de realizar.¹⁷

Aún con los conocimientos actuales sobre fisiopatología y las moléculas clave involucradas en el desarrollo de glaucoma, no se ha determinado la o las moléculas capaces de funcionar como biomarcador. Hoy en día el abordaje proteómico ha abierto un nuevo horizonte para entender los mecanismos moleculares involucrados en la patología ocular y lograr este objetivo. Las proteínas CREB-binding, Factor de inducción apoptosis, ephrina, Apolipoproteína A1, Complemento C3 y Serotransferrina se encontraron significativamente elevadas en pacientes con glaucoma, y cercanas a 0 en la mayoría de los pacientes sanos, por lo que pudieran ser candidatos para validación como biomarcadores. Se requiere de estudios adicionales, con muestras poblacionales mayores, que incluyan pacientes en diferentes estadios de la enfermedad, primordialmente en etapas tempranas, y reproducidos en distintas poblaciones para poder validarlos.^{14,15}

9. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe alguna proteína o grupo de proteínas que se expresen diferencialmente en los pacientes con Glaucoma primario de ángulo abierto y puedan ser validadas para diseñar una prueba diagnóstica temprana?

10. HIPÓTESIS

El perfil de expresión proteica serológico en pacientes mexicanos con glaucoma primario de ángulo abierto es diferente que los pacientes sanos de una población mexicana abierta y puede ser utilizado para la identificación de biomarcadores diagnósticos.

11. OBJETIVO GENERAL

- Validar un grupo de péptidos serológicos como biomarcadores para el diagnóstico de glaucoma primario de ángulo abierto

11.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar sensibilidad y especificidad del grupo de péptidos seleccionados en los pacientes con GPAA

12.- METODOLOGIA

12.1.- Diseño del estudio: Prospectivo, transversal, descriptivo y analítico

12.2.- Descripción del universo de trabajo: Pacientes mexicanos mayores de 40 años, con diagnóstico de glaucoma primario de ángulo abierto, así como controles sanos sin glaucoma

12.3.- Criterios de inclusión:

a) Criterios de inclusión casos:

1. Pacientes mayores de 40 años
2. Diagnóstico de glaucoma primario de ángulo abierto
 - a. Disco óptico con características clínicas de daño glaucomatoso en ambos ojos
 - b. Daño campimétrico característico de glaucoma con la perimetría automática estandarizada en ambos ojos
 - c. Disminución de la capa de fibras nerviosas fuera de límites normales, medida por tomografía óptica coherente en ambos ojos

b) Criterios de inclusión controles:

1. Pacientes sin glaucoma
2. Mayores de 40 años
3. Con la presión intraocular normal en al menos dos tomas con diferencia de 24 horas
4. Con el disco óptico a la exploración oftalmológica de características normales
5. Con capa de fibras nerviosas normal en todos los sectores medidas por tomografía de coherencia óptica.
6. Con campos visuales sin alteraciones con la perimetría automática estandarizada
7. Sin antecedentes familiares de glaucoma

12.4.- Criterios de eliminación

1. Pacientes que no asistan a los estudios del abordaje diagnóstico.
2. Pacientes que no deseen participar en el estudio.
3. Pacientes que no firmen el consentimiento informado para la toma de muestra de sangre.
4. Pacientes que se les detecte alguna enfermedad sistémica en el transcurso de abordaje clínico

12.5.-Criterios de exclusión:

1. Tratamiento médico farmacológico con hipotensores oculares
2. Tratamiento médico oftalmológico o sistémico
3. Enfermedades sistémicas crónicas (Diabetes, Hipertensión arterial sistémica, etc)
4. Cirugías oculares previas o tratamientos con láser
5. Alguna otra patología ocular

12.6.- Tamaño de muestra:

500 pacientes población abierta mexicana

12.7.- Metodología y descripción de procedimientos

Se cumplieron los lineamientos de la Declaración de Helsinki, obteniendo consentimiento informado de todos los casos y controles, tras explicar apropiadamente las posibles complicaciones de la toma de muestra.

Fases del estudio

a) Selección y estudio de los pacientes para realizar validación de biomarcadores

Se seleccionarán 500 pacientes en población abierta mexicana con diagnóstico, se les invitará a participar en el estudio y se recolectarán sus muestras serológicas previo consentimiento informado.

Los casos de glaucoma serán pareados en género y edad con pacientes sanos sin glaucoma.

Se cumplirán los lineamientos de la Declaración de Helsinki, obteniendo consentimiento informado de todos los casos y controles, tras explicar apropiadamente las posibles complicaciones de la toma de muestras.

Se realizará una historia clínica y revisión oftalmológica completa.

1) HISTORIA CLÍNICA. Se realizará una historia clínica detallada

- a) Ficha de identificación: Se tomarán los datos de identificación: Nombre, edad, género, lugar de nacimiento y lugar de residencia
- b) Anamnesis: Se realizará un interrogatorio dirigido y específico para identificar los factores de riesgo para glaucoma:

2) EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA

- a) Agudeza visual/ Capacidad visual: Se efectuará la medición de la agudeza visual de ambos ojos y se realizará refracción utilizando el autorrefractómetro.
- b) Biomicroscopia. Exploración del segmento anterior con la lámpara de hendidura con el fin de identificar cualquier signo de glaucoma secundario u otra patología ocular. Específicamente se buscarán datos de: pseudoexfoliación, pigmento, catarata, sinequias, inflamación aguda o crónica, recesión angular
- c) Paquimetría corneal. Se medirá el grosor corneal con paquímetro ultrasónico
- d) Tonometría. Se tomará la presión intraocular con el tonómetro de aplanación de Goldmann.

- e) GONIOSCOPIA. Se realizará la evaluación del ángulo camerular para identificar todas las estructuras del sistema trabecular y determinar si se encuentra abierto o cerrado. Se clasificará con el método de Shaffer.
- f) Oftalmoscopia posterior. Se realizará la evaluación del polo posterior bajo dilatación farmacológica con un lente aéreo de 78 D y se identificarán las características de la retina, de la mácula y de la papila o cabeza del nervio óptico.

(1) VALORACIÓN DE LA CABEZA DEL NERVIO ÓPTICO. Se identificará las siguientes características específicas de la papila:

- Tamaño del disco
- Excavación: Relación copa-disco
- Asimetría de la excavación del disco de 0.2 o mayor
- Anillo neuroretiniano. Pérdida de la relación normal de las porciones de la papila.
- Atrofia peripapilar
- Capa de fibras nerviosas
- Trayecto de los vasos
- Hemorragias en astillas
- Muecas en el anillo neuroretiniano

3) PRUEBAS DIAGNÓSTICAS:

- a) Se les realizará una Tomografía de coherencia óptica de fibras nerviosas de dominio espectral: Se medirá el grosor en micras de la capa de fibras nerviosas peripapilar, con el Spectralis- OCT (Tomografía óptica coherente) de Heidelberg Engineering

4) PROCESO DE MUESTRA SEROLÓGICA

Seleccionamos 8 péptidos para identificarlos y validarlos por medio de Western Blot: CREB-binding, Factor de inducción de apoptosis, ephrina, Fracción delta-r del Receptor ionotrópico de glutamato, Apolipoproteína A-1, Complemento C3, Serotransferina, WD repeat-containing protein 31.

Las muestras serán procesadas en el Instituto Nacional de Medicina Genómica

- a) Preparación de la muestra: Se tomará una muestra de sangre de 5 ml en tubos de VACUTAINER, posteriormente se centrifugarán a 1000 RPM por 10 min a

- 4°C. Se recupera el sobrenadante en alícuotas de 500 µl, y se almacenan a -80°C, hasta su uso.
- b) Electroforesis en gel de Acrilamida. Se realizará la separación de las proteínas en el extracto de acuerdo a su tamaño mediante electroforesis en gel de acrilamida, bisacrilamida.
 - c) Transferencia electroforética a una membrana. Las proteínas serán transferidas electroforéticamente a un soporte rígido o membrana donde quedan inmovilizadas.
 - d) Hibridación del Anticuerpo. Se incubará con un anticuerpo primario dirigido contra el epítipo específico de la proteína diana. Posteriormente se adicionará un anticuerpo secundario marcado que se unirá de forma específica al anticuerpo primario.
 - e) Detección de bandas mediante el método de Quimioluminiscencia.

12.8.- Descripción de las variables de estudio y sus escalas de medición

Variables a medir

I. Variables del análisis proteómico

Variable	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
Proteínas en suero	Nombres de la proteína identificadas	Categórica	nominal

II. Variables Independientes Clínicas

Variable	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
Edad	Años Cumplidos de vida al momento de entrar al estudio	Cuantitativa continua	Años

Género	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Dicotómico	Masculino Femenino
Lugar de Nacimiento	Estado y ciudad de nacimiento	Categórica	nominal
Antecedentes familiares de glaucoma	Antecedentes de familiar directo con diagnóstico de glaucoma	Dicotómico	Si No
Capacidad Visual	Agudeza visual con corrección óptica. Límite espacial de discriminación visual	Cuantitativa continua	Log Mar
Refracción	Valor dióptrico del punto remoto, expresado con signo contrario	Cuantitativa continua	Equivalente esférico Dioptías positivas o negativas
Presión intraocular	fuerza ejercida por el humor acuoso y vítreo sobre la superficie del ojo	Cuantitativa continua	mmHg
Paquimetría corneal	Grosor de la cornea central	Cuantitativa continua	Micras
Excavación clínica de la papila	Excavación de la papila: Relación copa disco vertical	Cuantitativa continua	0.1 a 1
OCT de fibras nerviosas	Grosor de la capa de fibras nerviosas peripapilar por sectores Grosor de la capa de células ganglionares macular	Cuantitativa continua	Micras

12.9.- Análisis estadístico propuesto

1. Para comparar la media de las variables continuas dimensionales en los dos grupos se utilizará la prueba de T-de Student para muestras independientes. Para las variables que no cumplan los criterios de normalidad se realizará prueba de Mann-Whitney.
2. Para identificar las proteínas candidato para ser utilizadas como biomarcador se realizará un análisis de componentes principales.
3. Se calculará la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica usando los biomarcadores. Se construirán curvas ROC (receiver operational characteristics), graficando la sensibilidad y especificidad para cada biomarcador conseguida con distintos puntos de corte de concentración.

13. ASPECTOS ÉTICOS

En acuerdo a los principios que establecen las “Buenas Prácticas Clínicas” (BCP), de conformidad con los enunciados en la declaración de Helsinki (última revisión en 2013), y de los lineamientos establecidos en la ley, donde debe prevalecer el bienestar individual de los sujetos sometidos a estudio por sobre los intereses de la ciencia y la comunidad, éste protocolo se llevara a cabo con la estricta consideración de los principios éticos y científicos reconocidos y respeto por la integridad física y mental de los pacientes involucrados; protegiendo la vida, la salud, la dignidad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información de las personas que participan en investigación.

En conformidad con los principios éticos para las investigaciones médicas, nos aseguramos de resguardar la intimidad de los individuos y la confidencialidad de la información recabada, permaneciendo anónima la información proporcionada por los participantes en todo reporte relacionado a la investigación.

De acuerdo al artículo 17 del Reglamento de la Ley general de salud en materia de investigación en salud, se trata de una Investigación con riesgo mínimo. La obtención de los datos se realizó a través de procedimientos comunes de exploración y de

diagnóstico rutinarios, como son la revisión oftalmológica bajo lámpara de hendidura, toma de la presión intraocular y revisión de fondo de ojo bajo dilatación farmacológica, así como la toma de una muestra de sangre. La toma de las muestras cumplió con estrictas normas de higiene. El procesamiento y desecho de las mismas será de acuerdo a la normatividad actual.

A los pacientes que cumplían con los criterios de inclusión se les invitó a participar en el protocolo de investigación y se harán de su conocimiento los objetivos, procedimientos, riesgos y beneficios del estudio (Anexo 1). Aquellos que proporcionaron su consentimiento informado de manera voluntaria fueron incluidos (Anexo 2).

El proyecto fue evaluado por el comité de investigación del INMEGEN el cual emitió su respuesta por escrito el 19 de junio del 2014 (documento CEI2014/28), en donde se menciona que no tienen ninguna observación que pudiera impedir la aprobación del proyecto, otorgándole financiamiento y quedando a consideración del dictamen del comité de investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación.

El proyecto fue sometido a revisión por el comité de investigación del INR, quien emitió su respuesta el 31 de Octubre del 2014 (documento INR/CI/241/14), en donde se informa que el proyecto requiere modificaciones menores y se emiten algunas recomendaciones sobre los criterios de inclusión de los participantes que serán reclutados. Se obtuvo la aprobación final por el comité de Ética e Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación en enero del 2015.

Se estableció un convenio de Colaboración con la Asociación para Evitar la Ceguera en México (APEC). El proyecto fue sometido a revisión y aprobado por el Comité de Investigación de la APEC en Septiembre del 2015.

14. INFRAESTRUCTURA DISPONIBLE

a) Servicio de oftalmología con el equipo necesario para poder llevar a cabo el estudio clínico de los pacientes. Además contamos con equipos diagnóstico como la tomografía óptica coherente de dominio espectral y los equipos de campos visuales.

b) Procesamiento de las muestras. El estudio proteómico de las muestras se realizará en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, que cuenta con las instalaciones,

tecnología y personal capacitado en espectrometría de masas necesarias para realizarlo.

15. RESULTADOS PRELIMINARES –

Durante el período de Febrero y Marzo de 2018 finalizamos la recolección de muestras serológicas 500 pacientes sanos. Con las muestras anteriores realizamos un estudio piloto, procesadas mediante electroforesis de proteínas en geles de dos dimensiones. Las imágenes de los geles fueron analizadas digitalmente y se detectaron 326 spots, de los cuales 294 fueron similares entre casos y controles y 15 spots estaban incrementados más de dos veces en los casos de glaucoma en comparación con los controles, por lo tanto, concluimos que si existe un patrón de expresión diferencial de proteínas entre los casos y controles de glaucoma. Sin embargo, desconocíamos que proteínas se encontraban presentes en estos cúmulos.

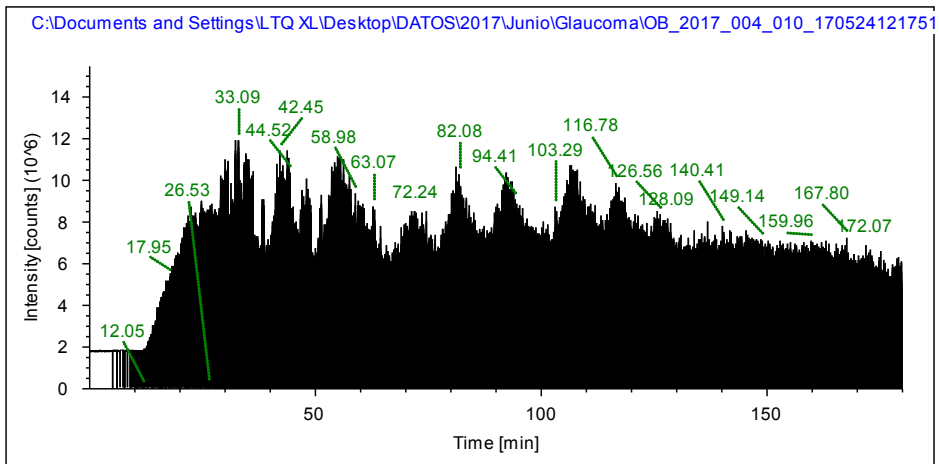
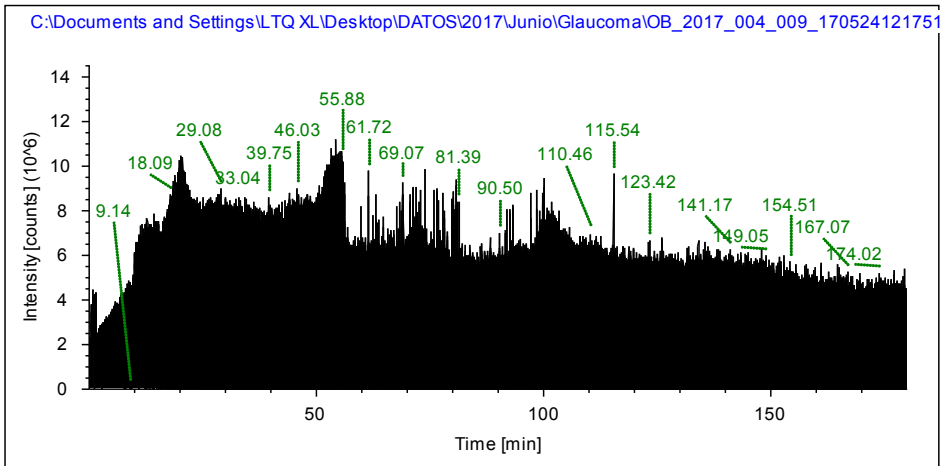
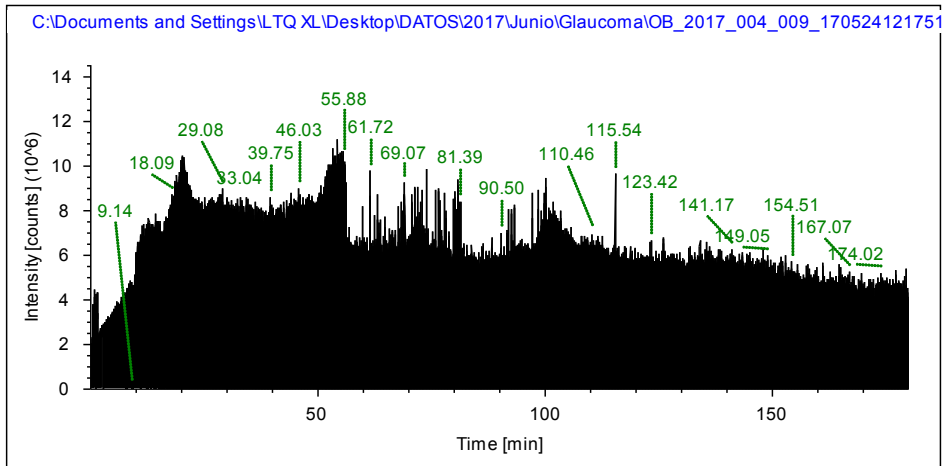
Se han procesado la mitad de las muestras recolectadas, se realizó espectrometría de masas (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight tandem mass spectrometry/4800 AB Sciex) y se identificaron todas las proteínas presentes en las mismas, posteriormente mediante motores de búsqueda (ProteinPilot, AB Sciex, MASCOT) obtuvimos los nombres de la totalidad de las proteínas.

Como resultado, actualmente tenemos un listado de todas las proteínas expresadas de pacientes, Estos datos requieren gran cantidad de análisis. El siguiente paso del estudio consiste en analizar los datos obtenidos. De todas las proteínas encontradas, requerimos seleccionar las que tengan mayor probabilidad de funcionar como biomarcador, las cuales serán las que validaremos en la siguiente fase del estudio. Para este análisis usaremos métodos estadísticos.

La siguiente fase del estudio consiste en validar alguna o algunas de las proteínas identificadas como un biomarcador de la enfermedad en una población mayor.

La media de edad para la totalidad de los pacientes fue de 59 años (Mínima 41, máxima 79). El grupo de pacientes sanos presentó una media de edad de 54.67 años, el grupo de glaucoma 62.83 y el de sospecha 63.14. La excavación en décimos de la cabeza del nervio óptico para ojos izquierdos tuvo una media de 0.40 en el grupo de sanos, 0.76 en el grupo de glaucoma y 0.52 en el grupo de sospecha. La presión intraocular de ojos derechos en el grupo sano tuvo una media de 14.3mmHg, con error estándar de 1.096, en el grupo de glaucoma la media fue de 13.4 y en el grupo de sospecha 15.0mmHg. En ojos izquierdos tuvo una media de 13.9 para el grupo sano, 14 para el grupo de glaucoma y 14.6 para el grupo de sospecha. El grosor medio de la capa de fibras nerviosas para el grupo sano fue de 113.18 micras, para el grupo de glaucoma fue de 80.73 y para el grupo de sospecha de 100.88 micras. El grosor medio de la capa de fibras nerviosas fue diferente entre los grupos con una p de 0.000

El grosor promedio de la capa de células ganglionares fue diferente entre los grupos con una p de 0.001. El área de la copa fue diferente con una p de 0.032. La relación copa/disco fue diferente con una p de 0.003. Las paquimetrías, el área de disco y la presión intraocular no fueron diferentes entre los grupos de manera estadísticamente significativo.



16. DISCUSIÓN

La búsqueda de biomarcadores para el diagnóstico de glaucoma es un área emergente de oportunidad en investigación. Con el avance hoy en día de las técnicas de proteómica como la espectrometría de masas y el desarrollo de la bioinformática y descripción del proteoma humano, se están identificando candidatos biomarcadores.

Con este estudio podremos determinar cuales podrían ser los biomarcadores significativamente más sensibles y específicos para en un futuro poder realizar un diagnóstico oportuno en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto. Por el momento podemos concluir que la población sana mexicana presente diferentes características en el nervio óptico comparado con aquellos pacientes que son sospechosos de glaucoma o tienen glaucoma primario de ángulo abierto. Las principales características son cambios en el tamaño del nervio óptico al igual que grosor de capas de fibras nerviosas que se midió por medio de la tomografía de coherencia óptica del nervio óptico.

Hasta el momento podemos decir que las obtenciones de nuevos biomarcadores en suero de pacientes en población mexicana sana nos podrían dar información adicional acerca de un probable glaucoma primario de ángulo abierto en estadios iniciales y por lo tanto realizar una intervención más oportuna en esta patología.

En un futuro es probable que con la ayuda de nuevas tecnologías podríamos hacer diagnósticos mucho más tempranos del glaucoma primario de ángulo abierto y no solo eso, sino la posibilidad de diseñar nuevos tratamiento con base en los biomarcadores que se expresen con más frecuencia, se sugiere continuar con nuevas líneas de investigación para este propósito.

17. BIBLIOGRAFIA

1. Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, Alward WL. Primary open-angle glaucoma. *N Engl J Med*. 2009 Mar 12;360(11):1113-24.
2. Kass MQA, Heuer DK, Higginbotham EJ, et al. The ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120:701-13.
3. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hymann L, Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol* 2002;120:1268-79.
4. Grant WM. Further studies on facility of flow through the trabecular meshwork. *Arch Ophthalmol*. 1958 Oct; 60(4):523-33.
5. Speakman JS, Leeson TS. Site of obstruction to aqueous outflow in chronic simple glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 1962 Jun; 46(6):321-35.
6. Alvarado JA, Yun AJ, Murphy CG. Juxtacanalicular tissue in primary open angle glaucoma and in nonglaucomatous normals. *Arch Ophthalmol*. 1986 Oct; 104(10):1517-28.
7. Zeimer RC, Ogura Y. The relation between glaucomatous damage and optic nerve head mechanical compliance. *Arch Ophthalmol*. 1989 Aug;107(8):1232-4.
8. Minckler DS, Bunt AH, Johanson GW. Orthograde and retrograde axoplasmic transport during acute ocular hypertension in the monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1977 May;16(5): 426-41
9. Quigley HA, Anderson DR. The dynamics and location of axonal transport blockade by acute intraocular pressure elevation in primate optic nerve. *Invest Ophthalmol*. 1976 Aug;15(8): 606-16.
10. Harris A, Rechtman E, Siesky B, Jonescu-Cuypers C, McCranor L, Garzosi HJ. The role of optic nerve blood flow in the pathogenesis of glaucoma. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005 Sep;18(3):345-53.
11. Kaur C, Foulds WS, Ling EA. Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage. *Clin Ophthalmol*. 2008 Dec;2(4):879-89.

12. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 1996 Mar;114(3):299-305.
13. Johnson EC, Morrison JC. Friend or foe? Resolving the impact of glial responses in glaucoma. *J Glaucoma*. 2009 Jun-Jul;18(5):341-53.
14. Nickells RW. From ocular hypertension to ganglion cell death: a theoretical sequence of events leading to glaucoma. *Can J Ophthalmol*. 2007 Apr;42(2):278-87.
15. Wax MB. The case for autoimmunity in glaucoma. *Exp Eye Res*. 2011 Aug;93(2):187-90.
16. Sharma P, Sample PA, Zangwill LM, Schuman JS. Diagnostic tools for glaucoma detection and management. *Surv Ophthalmol*. 2008 Nov;53 Suppl1:S17-32
17. Mowatt G, Burr JM, Cook JA, Siddiqui MA, Ramsay C, Fraser C, Azuara-Blanco A, Deeks JJ. OAG Screening Project. Screening tests for detecting open-angle glaucoma: systematic review and meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Dec;49(12):5373-85.
18. Mardin CY, Jünemann AG. The diagnostic value of optic nerve imaging in early glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol*. 2001 Apr;12(2):100-4.
19. Lisboa R, Leite MT, Zangwill LM, Tafreshi A, Weinreb RN, Medeiros FA. Diagnosing Preperimetric Glaucoma with Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*. 2012 Aug 7.
20. Golubnitschaja O, Flammer J. What are the biomarkers for glaucoma? *Surv Ophthalmol*. 2007 Nov;52 Suppl 2:S155-61. Review.
21. Pinazo-Durán MD, Zanón-Moreno V, García-Medina JJ, Gallego-Pinazo R. Evaluation of presumptive biomarkers of oxidative stress, immune response and apoptosis in primary open-angle glaucoma. *Curr Opin Pharmacol*. 2013 Feb;13(1):98-107.
22. Williams KL. Genomes and proteomes: towards a multidimensional view of biology. *Electrophoresis*. 1999 Apr-May;20(4-5):678-88. Review.

23. Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*. 2003 Mar 13;422(6928):198-207. Review.
24. Tezel G. A proteomics view of the molecular mechanisms and biomarkers of glaucomatous neurodegeneration. *Prog Retin Eye Res*. 2013 Feb .
25. Duan X, Xue PI Wang h', Dong Z, Lu Q, Yang F. Proteomic analysis of aqueous humor from patients with primary open angle glaucoma, *Mol Vis*, 2010 Dec 18;16:2839-46.
26. Tezel G, Thornton IL, Tong MG, Luo C, Yang X, Cai J, Powell DW, Soltau JB, Liebmann JM, Ritch R. Immunoproteomic analysis of potential serum biomarker candidates in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Dec 13;53(13):8222-31.
27. González-Iglesias H, Álvarez L, García M, Escribano J, Rodríguez-Calvo PP, Fernández-Vega L, Coca-Prados M. Comparative proteomic study in serum of patients with primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma. *J Proteomics*. 2014 Feb 26;98:65-78.
28. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol*. 2006 Mar;90(3):262-7.
29. Rudnicka AR, Mt-Isa S, Owen CG, Cook DG, Ashby D. Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Oct;47(10):4254-61.
30. Varma R, Ying-Lai M, Francis BA, Nguyen BB, Deneen J, Wilson MR, Azen SP; Los Angeles Latino Eye Study Group. Prevalence of open-angle glaucoma and ocular hypertension in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology*. 2004 Aug;111(8):1439-48.

Anexo 1

INVITACIÓN A PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:

Búsqueda de biomarcadores serológicos proteómicos para el diagnóstico de
Glaucoma Primario de Ángulo Abierto

INTRODUCCIÓN

Se le hace una cordial invitación para participar en el estudio sobre biomarcadores para el diagnóstico de Glaucoma.

El glaucoma es una enfermedad del nervio óptico que está asociado a un aumento de la presión intraocular. El nervio óptico lleva la información visual al cerebro, por lo tanto el daño de sus fibras puede disminuir la visión y sin tratamiento puede terminar en ceguera. De hecho el glaucoma es la principal causa de ceguera irreversible en el mundo.

Los factores de riesgo más importantes para desarrollar la enfermedad son el aumento de la presión intraocular, la miopía, tener más de 40 años, el antecedente familiar de glaucoma y el uso de gotas que contengan cortisona.

El glaucoma es una enfermedad que generalmente no produce síntomas o molestias, es decir es una enfermedad que permanece silenciosa hasta cuando se afecta la visión de manera irreversible. Se ha reportado que el 50% de las personas con glaucoma no lo sabe y cuando se llega al diagnóstico es demasiado tarde.

La detección sólo se puede realizar con la evaluación del fondo de ojo y exámenes específicos. Los exámenes necesarios para confirmar el glaucoma son de dos tipos: estudios funcionales y estudios estructurales. Los estudios funcionales sirven para saber si se ha afectado la función visual, y se llaman campimetría o campo visual. Los estudios estructurales sirven para saber si se ha dañado el nervio óptico, y son estudios de imagen como la tomografía de coherencia óptica.

Una vez que se realiza el diagnóstico de glaucoma, el tratamiento consiste en bajar la presión intraocular. Es una enfermedad que no se cura, pertenece al grupo de

enfermedades que se denominan crónico degenerativas, y por lo tanto requiere un control por el médico especialista de forma permanente; si esto se lleva a cabo de manera adecuada disminuye el riesgo de pérdida de la visión de manera sustancial

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo del estudio es ampliar el conocimiento sobre la enfermedad, para poder desarrollar en un futuro nuevas estrategias de diagnóstico y tratamiento. En este estudio se investigará el perfil de proteínas en suero de pacientes con glaucoma y se comparará con el de personas sanas.

Se le ha seleccionado para participar porque cumple con las características requeridas. Para decidir si participa o no, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los procedimientos, riesgos y beneficios con el fin tomar una decisión informada. Este formato le dará información detallada acerca del estudio de investigación y un miembro del equipo de investigadores lo discutirá con usted. Le informaremos de todos los aspectos de esta investigación incluyendo sus objetivos, los posibles beneficios y riesgos que tendrá si decide participar. Al final se le pedirá que forme parte del proyecto de manera voluntaria y de ser así, firmará la carta de consentimiento informado.

Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este formato.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

1. Se obtendrá información acerca de su historia clínica y se realizará una revisión oftalmológica completa que consiste en toma de agudeza visual, refracción y examen bajo microscopio. La información proporcionada por usted será confidencial y le aseguramos se protegerá y permanecerá anónima.
2. Se le realizará toma de la presión intraocular, previa aplicación de gotas de anestesia.

3. Se le aplicarán gotas para dilatar la pupila y poder realizar la evaluación del fondo de ojo completo
4. En una segunda visita se le realizarán las pruebas diagnósticas de campos visuales y tomografía de nervio óptico.
5. Se le tomará una muestra de sangre de 5 ml (que equivale a una cucharada grande) la cual será utilizada únicamente para este estudio

RESULTADOS DEL ESTUDIO

El resultado del estudio nos permitirá ampliar el conocimiento de la enfermedad para poder desarrollar nuevas estrategias de diagnóstico y tratamiento.

RIESGOS E INCONVENIENTES

Este estudio de investigación es de riesgo mínimo pues se le realizarán procedimientos comunes que consisten en exámenes físicos y diagnósticos rutinarios en la exploración oftalmológica. Usted puede presentar efectos secundarios mínimos por la aplicación de las gotas como pueden ser ardor, visión borrosa y molestia a la luz; sin embargo estos efectos serán sólo transitorios y no dejan ninguna secuela en el ojo. De presentar algún efecto secundario o adverso se le dará atención médica en el Instituto Nacional de Rehabilitación.

La toma de las muestras cumplirá con estrictas normas de higiene que garanticen su seguridad, y representa un riesgo mínimo de acuerdo a la Ley General de Salud. El procesamiento y desecho de las mismas será de acuerdo a la normatividad actual.

BENEFICIOS PARA USTED

Este estudio le dará el beneficio de saber si usted tiene mayor riesgo de desarrollar glaucoma o si ya tiene la enfermedad. Además conocerá su estado de salud ocular y podrá recibir recomendaciones de acuerdo a los hallazgos en su revisión.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio, y no se le dará alguna remuneración económica ni pago.

De desarrollarse en el futuro algún producto tecnológico con los resultados de este estudio, usted no recibirá ninguna remuneración económica.

DERECHO A RETIRAR SU CONSENTIMIENTO

Usted es libre de decidir si participa o no en este estudio de investigación. Si decide participar, puede cambiar de opinión y retirarse del estudio en el momento que lo decida. Si decide no participar, o si se retira, no afectará su relación con los médicos de su hospital tratante, y la muestra de sangre que dono no será procesada y se eliminará según los lineamientos del cuidado y desecho de material biológico.

CONTACTO PARA INFORMACION ADICIONAL

Si usted tiene alguna pregunta o duda acerca de este estudio, puede contactar al investigador responsable o principal o algún otro miembro del equipo de investigación.

Teléfono: 55 59 99 1000, ext 18175

Investigador Responsable:

Dra. Francisca Domínguez Dueñas

Médico especialista en Oftalmología,

Médico adscrito al servicio de oftalmología del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Miembros del equipo de investigación especialistas en Oftalmología.

Dra. Elizabeth Mundo Fernández

Dra. Mariana Puerto Cámara

Firma: _____

Anexo 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**BUSQUEDA DE BIOMARCADORES SEROLÓGICOS PROTEÓMICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE GLAUCOMA PRIMARIO DE ÁNGULO ABIERTO**

Yo, _____, he discutido el estudio con la Dra. Francisca Domínguez Dueñas, y declaro lo siguiente:

- I. He recibido información clara por escrito y entendido el propósito de este estudio con los potenciales riesgos y beneficios que conlleva participar en él.
- II. Se han atendido todas mis dudas acerca de la participación en el estudio.
- III. Mi participación en este estudio es voluntaria y no recibiré remuneración alguna.
- IV. Entiendo que puedo retirarme de este estudio en cualquier momento sin perder ninguno de los beneficios a los cuales normalmente tendría derecho en el Instituto Nacional de Rehabilitación si no fuera parte de ningún protocolo.
- V. Se me ha entregado una copia de este formato de consentimiento.

Con este documento, doy mi libre consentimiento informado para participar en este estudio.

Nombre completo del paciente: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

Firma: _____

Fecha: _____

TESTIGOS

Nombre completo: _____

Parentesco con el paciente: _____

Dirección: _____

_____ Teléfono: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Firma Investigador Responsable: _____

Firma de un miembro del equipo de Investigación: _____

Anexo 3

Productos Derivados de la Investigación:

1.- Formación de recursos humanos

Tesis de licenciatura	<input type="checkbox"/>	Tesis de especialidad	<input checked="" type="checkbox"/>
Tesis de maestría	<input type="checkbox"/>	Tesis de doctorado	<input checked="" type="checkbox"/>

Anexo 4

Fuente de financiamiento

Cuenta con financiamiento externo.

Si

No

Gasto de Inversión:

Descripción	Primer año	Segundo año
Equipo de laboratorio	X	
Adecuaciones		
Software especializado		

Gasto corriente:

Descripción	Primer año	Segundo año
Materiales de consumo directo: animales de experimentación)		
Operación y mantenimiento de equipo		
Arrendamiento de vehículos y/o equipo		
Consumibles de laboratorio y reactivos	X	
Trabajo de campo	X	X
Apoyo a estudiantes		