



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

Area Académica de Ciencias de la Salud

Coordinación de la Maestría en Salud Pública

Asociación de los polimorfismos del gen del receptor tipo Trol 4
con Glaucoma Primario de Angulo Abierto en población del
occidente de México

**TRABAJO RECEPTACIONAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA
ÁREA SALUD COMUNITARIA**

Estudiante Pedro de Jesús Ramírez Barrera

Director Dr. en C. José Navarro Partida

Trabajo realizado con el apoyo de una beca nacional de CONACYT



SEPTIEMBRE 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

Área Académica de Ciencias de la Salud

Coordinación de la Maestría en Salud Pública

**Asociación de los polimorfismos del gen del receptor tipo Toll 4
con Glaucoma Primario de Ángulo Abierto en población del
occidente de México**

**TRABAJO RECEPCIONAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA**

ÁREA SALUD COMUNITARIA

Estudiante: Pedro de Jesús Ramírez Barrera

Director: Dr. en C. José Navarro Partida

Trabajo realizado con de apoyo de una beca nacional de CONACYT



SEPTIEMBRE 2016

Dedicado a:

Mi mamá por haberme dado su amor apoyándome a comenzar esto, por su ayuda en cada momento y cuidarme en la enfermedad.

A mis tres hermanas Carolina, Perla y Julieta esperando que este pequeño trabajo las aliente a continuar aprendiendo.

A Sandra Leal por ser mi alma gemela y consejera.

Agradecimientos

Mi gratitud se divide en muchas partes

A Dios por darme esta oportunidad.

A mi mamá por todo su apoyo y por entregarse siempre a mí.

A Sandra Leal por ser compañera en los buenos y malos tiempos.

A mis amigas Sinnay Ramos y Miriam Vázquez por compartir conmigo todo lo que tienen.

A mi director de tesis pero sobre todo mi amigo José Navarro Partida por confiar en mí sin dudar.

A mi Universidad, por darme oportunidades en cada ocasión que lo eh solicitado.

A los amigos que conocí en el laboratorio y que se esforzaron para que alcanzáramos este objetivo.

A Delia Mondragón, al Licenciado y a Zally por darme la última chispita de magia que necesitaba para concluir este trabajo.

Contenido

1. RESUMEN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
Clasificación del glaucoma.....	4
Glaucoma Primario de Ángulo Abierto.....	4
Manifestaciones clínicas del Glaucoma Primario de Angulo Abierto.....	5
Patogenia del GPAA	6
Tratamiento del Glaucoma	8
Epidemiología del glaucoma.....	9
Receptores Tipo Toll	11
Receptor TLR4.....	12
Polimorfismos del receptor TLR4 y su asociación a glaucoma.....	13
3. ANTECEDENTES.....	14
Estudios de asociación del genoma	14
Estudios epidemiológicos previos sobre glaucoma.....	15
Estudios epidemiológicos actuales sobre glaucoma	17
Estudios epidemiológicos en México y Latinoamérica	18
Determinantes Sociales en el GPAA	22
Estudios genéticos sobre glaucoma.....	24
Salud pública y genómica	26
Medicina personalizada.....	28
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	30
6. JUSTIFICACIÓN.....	30
7. OBJETIVOS	31
Objetivo general	31
Objetivos específicos.....	31
8. HIPÓTESIS	31
9. METODOLOGÍA.....	32
Universo de estudio.....	32
Selección y tamaño de muestra	32
Unidad de análisis.....	32

Unidad de Observación.....	32
Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión.....	33
Criterios de Inclusión	33
Criterios de No Inclusión	33
Criterios de Exclusión	34
Procedimiento de selección de casos y controles	34
Procedimiento de obtención de DNA genómico y genotipificación	34
Análisis estadístico.....	35
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
Pacientes	36
Alelos y genotipos	36
Discusión.....	41
11. CONCLUSIONES	43
PERSPECTIVAS EN SALUD PÚBLICA	44
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS.....	60

GLOSARIO

AL: América Latina.

CD14: Cluster de Diferenciación.

CGR: Células Ganglionares de la Retina.

DM: Diabetes Mellitus.

DNA: Ácido desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés).

EUR: Euros.

GH: Genómica Humana.

GPAA: Glaucoma Primario de Ángulo.

GPAC: Glaucoma Primario de Ángulo Cerrado.

GPTN: Glaucoma Primario de Tensión Normal.

HTA: Hipertensión Arterial.

IC: Intervalo de Confianza.

LALES: The Los Angeles Latino EyeStudy (por sus siglas en inglés).

LBP: Proteína de unión al Lipopolisacárido (por sus siglas en inglés).

LOXL: Lisil Oxidasa.

LP: Lipopolisacárido.

LPS: lipopolisacaridos.

MD-2: Proteína de diferenciación Mieloide 2.

MYOC: Miocilina.

NO: Nervio Óptico.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPTN: Optineurina.

OR: Odds Ratio.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (por sus siglas en inglés).

PGH: Proyecto Genoma Humano.

PIO: Presión Intraocular.

PRR: Receptores de Reconocimiento de Patrones Moleculares (por sus siglas en inglés).

SNPs: Polimorfismos de un Solo Nucleótido (por sus siglas en inglés).

TLR: Receptores Tipo Toll (por sus siglas en inglés). **TLR4:** Receptor tipo Toll 4 (por sus siglas en inglés). **WDR36:** WD repeat-containing protein.

1. RESUMEN

El glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA) es una neuropatía óptica caracterizada por el daño irreversible en el nervio óptico (NO), considerada una de las principales causas de ceguera en el mundo. La elevación de la presión intraocular es el factor de riesgo más conocido y el único modificable para su tratamiento. La mejor alternativa para su abordaje, es la identificación de los factores de riesgo para lograr una detección y tratamiento tempranos. El glaucoma es la segunda causa de ceguera en el mundo, solo superado por la catarata. La Organización Mundial de la Salud estima que existen en el mundo 100 millones de personas con sospecha de glaucoma, 70 millones padecen la enfermedad; de las cuales cerca de 3 millones están ciegas bilateralmente. La medicina genómica brinda a la salud pública la oportunidad de desarrollar conocimientos que ayuden a prevenir o retrasar el inicio de muchas enfermedades comunes de manera más individualizada. La posibilidad de una relación genética en el glaucoma fue descrita por primera vez en 1842 por Benedict, debido al hallazgo de dos hermanas afectadas por la enfermedad. La importancia del componente genético es evidenciada por un creciente número de estudios. Al menos 14 loci se han identificado asociados al glaucoma. Recientemente se han relacionado polimorfismos del gen del receptor tipo Toll 4 (TLR4) con el GPAA en población japonesa. Resulta de interés el estudio del gen TLR4 y su asociación con glaucoma, debido a que diversa evidencia ha demostrado que su señalización y expresión se ve incrementada en la retina de los pacientes que lo padecen, así como en la retina de animales a los cuales se les induce daño glaucomatoso del NO.

El objetivo de la presente investigación consistió en determinar la asociación de seis polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) del gen del receptor tipo Toll 4 (TLR4) (rs12377632, rs4986790, rs4986791, rs1927911, rs11536889 y rs2149365) con GPAA en población mexicana. Para ello, se realizó un estudio genético de casos (pacientes con diagnóstico de GPAA) y controles (pacientes sin evidencia clínica de

glaucoma). El ácido desoxirribonucleico (DNA) genómico de los pacientes incluidos en el estudio se obtuvo de una muestra de sangre total congelada, para posteriormente ser utilizado en ensayos de genotipificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Una vez realizada la determinación de alelos y genotipos en casos y controles se procedió a comparar su frecuencia. El riesgo para el desarrollo de GPAA asociado a los alelos, genotipos y haplotipos de estudio se expresó como Odds Ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95%. Se analizaron un total de 187 casos y 109 controles, observándose en el grupo control una mayor frecuencia del alelo mayor en 5 de los 6 SNPs. Además se relacionó la presencia del alelo menor con riesgo de presentar GPAA en 4 de los 6 SNPs, destacando por su grado de asociación el rs4986790 (OR: 4.4792 IC 95%= 1.4635-13.7089).

Respecto al genotipo, se observó asociación de riesgo en 5 de los 6 polimorfismos analizados (modelo dominante), siendo el SNP rs4986790 A/G el correlacionado con mayor riesgo (OR= 4.4699; IC 95%= 1.4286-13.9854). Por último, se identificó al haplotipo ACGGCG (rs4986790, rs4986791 rs1927911, rs2149356, rs12377632, rs11536889) como factor protector para el GPAA (OR=0.56; IC 95% 0.35 - 0.89, P=0.015). En conclusión, se observó asociación significativa entre alelos, genotipos y haplotipo del gen TLR4 con el GPAA en población del occidente de México, por lo que constituye un gen candidato para la determinación de individuos en riesgo.

2. MARCO TEÓRICO

El término glaucoma incluye una neuropatía óptica en donde la degeneración apoptótica de las células ganglionares de la retina lleva a la excavación característica de la cabeza del nervio óptico (secundario a pérdida de los axones). Este daño ocasiona la reducción del campo visual y la consiguiente ceguera, afectando usualmente ambos ojos. Los criterios de diagnóstico varían, pero se ha establecido la definición siguiente: aumento de la presión intraocular (PIO) mayor de 22mmHg, "encopamiento" del nervio óptico (relación copa/disco >0.7), anomalías del campo visual (documentadas por perimetría estática automatizada), todos juntos o como hallazgo único. ^{1,2}

El glaucoma constituye la segunda causa de ceguera alrededor del mundo, afecta a más de 70 millones de personas de las cuales aproximadamente el 10% padecen ceguera de ambos ojos.³ El glaucoma ha sido considerado como el padecimiento ocular que causa más ceguera irreversible en países desarrollados.^{4,5} y se ha estimado que aproximadamente 11.1 millones de personas serán bilateralmente ciegas a causa de glaucoma primario para el año 2020.³ Información proveniente de estudios institucionales sugiere que en México el glaucoma es una de las causas más relevantes de disfunción visual y los mexicanos parecen ser especialmente susceptibles a esta enfermedad. ⁶ Además, el impacto socioeconómico que causa el glaucoma por costos directos e indirectos, así como por la pérdida en la productividad personal, familiar y comunitaria es significativo, aunque no fácilmente cuantificable. ^{7,8}

A pesar de su etiología compleja, y la dificultad de diagnóstico, se han identificado grupos con mayor prevalencia de glaucoma. Para población caucásica, el rango va entre 0.28% a 2% (16) y en población de origen africano, es hasta del 8% (16 a 20).⁵ Recientemente se ha incluido a la población mexicana como población de alto riesgo para GPAA, debido a la alta prevalencia de este padecimiento en este grupo étnico.⁴

Clasificación del glaucoma

El glaucoma clínicamente suele ser clasificado como a) congénito (del desarrollo), o b) adquirido. A su vez es subclasificado como de ángulo abierto o cerrado en función de que exista o no cierre del ángulo iridocorneal. Cada subgrupo ha sido arbitrariamente dividido en primario, cuando la cámara anterior y el ojo son normales y no hay una causa aparente para el glaucoma; y secundario, si el glaucoma es causado por condiciones oculares o sistémicas subyacentes.¹

El glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA), se ha dividido a su vez en glaucoma crónico de ángulo abierto, refiriéndose a aquél que se presenta en personas mayores de 40 años y glaucoma de ángulo abierto juvenil cuya edad de aparición está entre los tres años y la tercera década de la vida.² Se estima que aproximadamente la mitad de los 70 millones de personas afectadas con glaucoma en el mundo, tienen glaucoma de ángulo abierto.^{3,9} Una característica primordial del GPAA es el de ser asintomático y progresivo, hasta que ocasiona la pérdida irreversible de la visión, sin embargo, en una fase inicial ésta puede ser controlada, según sea el caso, por gotas tópicas o cirugía.¹

Glaucoma Primario de Ángulo Abierto

El GPAA es una de las principales causas de ceguera en el mundo. La elevación de la presión intraocular (PIO) es el factor de riesgo más conocido y el único modificable para esta entidad. La prevalencia y severidad se reduce tratando individuos con hipertensión ocular antes de desarrollarlo. La mejor alternativa para el abordaje del glaucoma radica en la estratificación de los factores de riesgo para detectar a quienes puedan ser beneficiados con observación o tratamiento temprano. El objetivo principal del tratamiento del glaucoma es prevenir la pérdida visual y la ceguera.¹⁰

El glaucoma, es una enfermedad ocular conocida por siglos, que permanece en los programas de salud pública debido a las dificultades para el diagnóstico precoz y su necesidad de tratamiento a lo largo de la vida. El glaucoma primario de ángulo

abierto (GPAA), también conocido como glaucoma crónico de ángulo abierto, o glaucoma crónico simple puede definirse como una neuropatía óptica caracterizada por cambios de la papila y deterioro del campo visual acompañada o no de hipertensión ocular.¹¹

La base biológica del glaucoma es poco conocida y los factores que contribuyen a su progresión no se han caracterizado completamente.¹²

Los médicos de atención primaria pueden jugar un papel importante en el diagnóstico de glaucoma y remitir a los pacientes con antecedentes familiares o con hallazgos sospechosos en la cabeza del nervio óptico para un examen oftalmológico completo, logrando así el inicio oportuno del tratamiento.¹³

Manifestaciones clínicas del Glaucoma Primario de Angulo Abierto

El GPAA es bilateral, en el que la presión intraocular se incrementa al disminuir el drenaje del humor acuoso a través de la malla trabecular. La prevalencia es mayor en familiares de primer grado de individuos afectados y en diabéticos. En personas de raza negra es más frecuente, ocurre a edades más tempranas y ocasiona un daño más grave del nervio óptico. Al inicio no suele haber síntomas, de tal modo que el glaucoma crónico se detecta a menudo en un examen ocular sistemático. Para establecer el diagnóstico es necesario que haya anomalías consistentes y reproducibles en al menos dos de tres parámetros: papila óptica, campo visual y presión intraocular.¹⁴

La depresión papilar se identifica por incremento absoluto, o asimetría entre ambos ojos, de la proporción entre la depresión óptica y el diámetro total de la papila óptica. Las anomalías del campo visual aparecen al principio en la región paracentral, seguidas de contracción del campo visual periférico (visión en túnel). La visión central sigue siendo satisfactoria hasta etapas ulteriores de la enfermedad. Los límites normales de la presión intraocular son 10 a 21 mmHg. En muchas personas el incremento de la presión intraocular no se acompaña de anomalías de la papila óptica ni del campo visual. Una proporción significativa de ojos con glaucoma primario de ángulo abierto tiene presión intraocular normal cuando se realiza la

medición por primera vez y sólo con mediciones repetidas se identifica la presión anormalmente alta. El diagnóstico de glaucoma no siempre es sencillo lo que obstaculiza la eficacia de programas de detección.¹⁴

El glaucoma puede permanecer asintomático hasta que es grave, lo que resulta en una alta probabilidad de que el número de personas afectadas es mucho mayor que el número que sabe que lo padecen.¹⁵

Debido a que no existe un estándar de referencia ideal y única para establecer el diagnóstico de glaucoma, el diagnóstico precoz puede ser un reto. Aunque el examen de la cabeza del nervio óptico puede revelar signos de pérdida neuronal, una amplia variabilidad de su aparición en la población sana hace que la identificación temprana de daños sea desafiante. La presencia de defectos del campo visual característicos puede confirmar el diagnóstico, pero hasta el 30% y el 50% de las células ganglionares de la retina pueden ser perdidos antes de los defectos se pueden detectar mediante pruebas estándar de campo visual.¹⁶

Patogenia del GPAA

Se considera que el GPAA es una patología en la que el nervio óptico se encuentra sumamente sensible a los efectos deletéreos mecánicos de la PIO, el daño estructural tanto de la malla trabecular como del trabéculo yuxtacanalicular y posiblemente un factor isquémico del nervio óptico. Los procesos ciliares producen el humor acuoso, que pasa desde la cámara posterior a través de la pupila hacia la cámara anterior transportado a través de la malla trabecular, posteriormente entra al canal de Schlemm y sale del ojo a través del sistema venoso por el plexo de canales colectores. El coeficiente de salida normal es de 0.28 ± 0.5 mL/min, volumen que disminuye con la edad y en el paciente que padece glaucoma. El trabéculo yuxtacanalicular ofrece resistencia al flujo de humor acuoso determinando así la presión intraocular. Se cree que una de las causas del glaucoma crónico de ángulo abierto es una incapacidad del trabéculo yuxtacanalicular para permitir el paso de sustancias¹⁷

Se han propuesto dos teorías para tratar de comprender el daño al nervio óptico, la teoría mecánica sostiene que la lámina cribosa del nervio óptico sufre una deflexión mecánica en forma de estrangulamiento, por otra parte la teoría vascular sostiene que la lámina cribosa se abomba al aumentar la PIO, comprimiendo así los finos capilares que nutren la capa superficial del NO.¹⁷

El GPAA es un padecimiento comúnmente asintomático hasta que los incrementos considerables de la PIO se expresan con la disminución de la visión, dolor o incomodidad ocular, percepción de halos de colores alrededor de las fuentes de luz; fenómeno relacionado con el edema corneal secundario a la elevación de la PIO, alteración en la adaptación a la oscuridad y restricción subjetiva de los campos visuales.¹⁸

La neuropatía óptica glaucomatosa puede ocurrir en individuos con presiones intraoculares normales, en tales pacientes, puede haber una presión del líquido cefalorraquídeo anormalmente baja en el espacio subaracnoideo del nervio óptico que resulta en un gran gradiente de presión a través de la lámina. La microcirculación alterada, la inmunidad alterada, excitotoxicidad, y el estrés oxidativo pueden también estar asociados con glaucoma.^{19,20}

Algunos procesos patológicos neuronales primarios pueden causar neurodegeneración secundaria de otras neuronas de la retina y las células en la vía visual central mediante la alteración de su medio ambiente y el aumento de la susceptibilidad a los daños.²¹

La etiología genética del GPAA es apoyada por un creciente número de estudios. Al menos 14 loci se han identificado asociados al glaucoma.^{22,23,24,25} Entre estos loci, seis genes (MYOC, OPTN, WDR36, NTF4, TBK1 y ASB10) pueden causar formas mendelianas de glaucoma. Las mutaciones en el gen MYOC son la causa conocida más frecuente de los casos de glaucoma en todo el mundo (~ 1 de cada 25 casos) y se asocian con GPAA.^{26,27}

Tratamiento del Glaucoma

La reducción de la presión intraocular es el único método probado para tratar el glaucoma.²⁸ Se han realizado esfuerzos considerables para desarrollar tratamientos para prevenir el daño del nervio óptico, desafortunadamente no existe evidencia de que los tratamientos encontrados pueden prevenir de forma segura la progresión de la enfermedad en pacientes con glaucoma. En parte, la neuroprotección no ha tenido éxito debido a la comprensión incompleta de los mecanismos fisiopatológicos asociados con el daño del nervio óptico así como la identificación limitada de medicamentos y la falta de una vía de reglamentación para la aprobación de fármacos.²⁹

Cuando el tratamiento médico no logra la reducción de la presión intraocular de forma esperada, se indica la terapia con láser o cirugía incisional. El número anual de cirugías de glaucoma realizadas por millón de personas en los Estados Unidos se ha estimado en 274.³⁰

La trabeculectomía es el procedimiento quirúrgico de incisión realizada con mayor frecuencia para disminuir la presión intraocular. Se compone de la escisión de una pequeña porción de la malla trabecular y el tejido o corneoscleral adyacente para proporcionar una ruta de drenaje para el humor acuoso desde dentro del ojo hasta debajo de la conjuntiva, donde se absorbe. Agentes anticorrosivos se aplican con frecuencia a la zona quirúrgica para reducir la respuesta fibroproliferativa y aumentar las tasas de éxito de la cirugía, pero puede aumentar la tasa de complicaciones como la infección y el daño de muy baja presión intraocular. Los dispositivos que drenan el humor acuoso a un depósito externo son una alternativa a la trabeculectomía que son igualmente eficaces en la reducción de la presión intraocular.³¹

Se han propuesto varias alternativas a estos procedimientos y están siendo investigados, estos son llamados cirugías de glaucoma mínimamente invasivas que

potencialmente incurren en menos riesgo de complicaciones que amenazan la vista.³²

Hasta la fecha, estos procedimientos no han tenido la misma eficacia para disminuir la presión intraocular como la trabeculectomía; sin embargo, pueden estar indicados para casos seleccionados en que las consideraciones de riesgo-beneficio son más favorables que los que tienen la trabeculectomía. En un reciente metanálisis se compararon la trabeculectomía con cirugías no penetrantes (esclerectomía profunda y canaloplastia) y concluyó que, si bien la trabeculectomía fue más eficaz en la reducción de la presión, lleva a un mayor riesgo de complicaciones.³³

Los medicamentos de primera línea son los análogos de prostaglandinas y beta bloqueadores no selectivos que están contraindicados en casos de cardiopatía, neumopatía y dislipidemia. Se sugiere iniciar con análogos de prostaglandinas en caso de contraindicación se recomienda el uso de beta bloqueador y cuando no se logre obtener la PIO meta, adicionar inhibidores de anhidrasa carbónica tópica, alfa agonistas o pilocarpina. Si una droga falla en reducir la PIO, debe ser sustituido hasta encontrar el agente efectivo. El oftalmólogo debería programar una visita de seguimiento 2 a 8 semanas después del cambio de medicamentos para evaluar la respuesta de los nuevos medicamentos.¹¹

Epidemiología del glaucoma

En el mundo, las principales causas de discapacidad visual son errores de refracción (43%) y las causas de ceguera crónica como cataratas (33%) y el glaucoma (2%). La ceguera relacionada con la edad y la diabetes no controlada está aumentando en todo el mundo, mientras que la ceguera de causa infecciosa está disminuyendo gracias a las medidas de salud pública. Tres cuartas partes de los casos de ceguera son prevenibles o tratables.³⁴

Existen a nivel mundial aproximadamente 285 millones de personas con discapacidad visual, de las cuales 39 millones son ciegas y 246 millones presentan baja visión. Aproximadamente un 90% de la carga mundial de discapacidad visual se concentra en los países de ingresos bajos. El 82% de las personas que padecen

ceguera tienen 50 años o más. En términos mundiales, los errores de refracción no corregidos constituyen la causa más importante de discapacidad visual, pero en los países de ingresos medios y bajos las cataratas siguen siendo la principal causa de ceguera seguida por padecimientos como el glaucoma. El 80% del total mundial de casos de discapacidad visual se pueden evitar o curar. Alrededor de un 65% de las personas con discapacidad visual son mayores de 50 años, si bien este grupo de edad apenas representa un 20% de la población mundial, con una población anciana en aumento en muchos países, más personas estarán en riesgo de sufrir discapacidad visual por enfermedades oculares crónicas y envejecimiento.³⁵

En los últimos 25 años, la proporción global de ciegos se ha elevado de 28 a casi 50 millones; pero cada año se incrementa en alrededor de 2 millones y probablemente se duplique dentro de un par de décadas.³⁶

El glaucoma es la segunda causa de ceguera en el mundo, solo superado por la catarata. La organización mundial de la salud (OMS) estima que existen en el mundo 100 millones de personas con sospecha de glaucoma, 70 millones padecen la enfermedad de las cuales cerca de 3 millones están ciegas bilateralmente. Se calcula una prevalencia de 1.5 a 2 % en personas mayores de 40 años de edad que va en aumento hasta 4 % en mayores de 70 años, estas cifras varían según la región geográfica.³⁷

A finales del siglo pasado, más de 60 millones de personas fueron afectadas por glaucoma en todo el mundo y cerca de 10 % quedaron como ciegas bilateralmente.³⁸

En la actualidad se considera que el 50 % de los seres humanos con glaucoma se encuentran sin diagnosticar; por ende, la detección precoz de su cuadro clínico y el tratamiento eficaz se han convertido en dos de los grandes retos de la sanidad para disminuir el coste social de la ceguera.^{39,40}

Entre los factores de riesgo no oculares los datos son consistentes en apoyar la edad como un factor de riesgo importante. Su incidencia es de 1.5 % en la población total y del 3 al 4 % en los grupos de más de 40 años y que alrededor de un 25 % de

estos casos no se detectan. Aunque algunos autores niegan la importancia que juegan los antecedentes patológicos personales se ha demostrado la relación que existe entre el GPAA y antecedentes personales de diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HTA), enfermedades cardiovasculares, tabaquismo y consumo de alcohol. Mientras que la prevalencia del glaucoma es de 1.5 % a 2.0 % en la población general, del 10 % al 15 % de los familiares de individuos con GPAA están propensos a desarrollar la enfermedad. El GPAA es particularmente común en personas de color de piel negra, las cuales tienen un riesgo cuatro veces mayor de desarrollarla y en quienes tienen de 45 a 65 años, la frecuencia es 15 veces mayor que en las personas blancas en el mismo grupo de edad.^{41,42}

Una revisión sistemática y meta análisis realizado en el año 2014 que incluyó siete de estudios de casos y controles y seis cohortes, concluyó que los individuos con DM tienen un mayor riesgo de desarrollar glaucoma de ángulo abierto.⁴³

Receptores Tipo Toll

Los Receptores Tipo Toll (TLR) son glicoproteínas transmembranales que reconocen estructuras que comparten un amplio grupo de microorganismos por lo que se les considera la principal defensa de la respuesta inmune innata contra patógenos. Dichos receptores son expresados en una gran variedad de tipos celulares, tanto inmunitarios (monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B y linfocitos T gamma/delta), como no inmunitarios (fibroblastos, miocitos cardiacos, células del endotelio vascular y células epiteliales).^{44,45,46} Al momento se han descrito 10 TLR en humanos, los cuales se dividen en dos grupos de acuerdo a su localización celular y al patrón molecular que reconoce. Mas específicamente un grupo está formado por el TLR3, 5, 7, 8 y 9 los cuales se expresan exclusivamente en vesículas intracelulares (retículo endoplásmico, endolisosomas y lisosomas) y reconocen ácidos nucleicos exógenos. El TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 y TLR10 conforman el segundo grupo, se expresan en la membrana plasmática y reconocen componentes de la membrana microbiana como lípidos, lipoproteínas y péptidos.⁴⁷

La totalidad de los receptores tipo toll comparten un elemento estructural común en su región extracelular, segmentos repetitivos de 24 a 29 aminoácidos que contienen la secuencia xLxxLxLxx (donde x es cualquier aminoácido y L es leucina). Estos motivos estructurales se denominan repeticiones ricas en leucina (LRR, del inglés "leucine-rich repeats"). Todos los TLR contienen varias LRR, y un subconjunto de las LRR constituye la región extracelular de unión a ligando del TLR. El dominio intracelular de los TLR se denomina dominio TIR (de Toll/ IL-1 receptor, receptor Toll/IL-1), por alusión a la similitud entre los dominios citoplásmicos de los TLR y la región comparable de un receptor para IL-1. Los dominios TIR tienen tres regiones altamente conservadas llamadas cajas (secuencias) 1, 2 y 3, las cuales sirven como sitios de unión para proteínas intracelulares que participan en las vías de señalización mediadas por TLR.⁴⁸

Varios receptores tipo Toll, los TLR 1, 2, 4 y 6, funcionan como dímeros (en algunos casos, en el complejo formado se incorporan proteínas adicionales). El TLR4, se para consigo mismo (formando un homodímero), y los otros forman complejos mixtos (heterodímeros).⁴⁸

Receptor TLR4

El receptor TLR4 fue el primer miembro de la familia de los TLR identificado y el mejor caracterizado hasta la fecha. Su principal función es el reconocimiento de lipopolisacáridos bacterianos (LPS). Además reconoce ligandos endógenos como son las proteínas de choque térmico 60, 79 y 96.⁴⁹

La estimulación del TLR4 trae como consecuencia la activación de la vía del NFκB, con la consecuente producción de citocinas pro-inflamatorias y la expresión de interferón tipo I.^{50,51,52}

Se sugiere que la participación de TLR4 en el reconocimiento y respuesta frente a las infecciones sistémicas bacterianas, principalmente las originadas por bacterias Gram negativas es crucial para el desenlace de la enfermedad.⁵³

A diferencia de otros TLR, el TLR4 es incapaz de reconocer por sí solo a su ligando, requiriendo la formación de un complejo de reconocimiento para poder llevar a cabo su función. Este complejo incluye dos proteínas accesorias: CD14 (cluster de diferenciación 14) y LBP (proteína de unión al lipopolisacárido), además de la proteína de señalización MD-2 (proteína de diferenciación mieloide 2). CD14 y LBP se encuentran ancladas a la membrana celular pero carecen de dominio citoplasmático, por lo que son incapaces de transducir señal alguna al interior celular tras el reconocimiento del ligando. La función de estas moléculas consiste en presentar el LPS bacteriano a MD-2, que a su vez se une a TLR4. Los mecanismos moleculares bajo los cuales el LPS es transferido desde CD14 a MD-2 no han sido completamente esclarecidos, habiéndose sugerido incluso que la participación de CD14 no es necesariamente requerida para que tenga lugar la interacción de MD-2 con el LPS y la posterior señalización de TLR4. Lo contrario sucedería con MD-2, una molécula necesaria en la respuesta frente al LPS bacteriano ya que su ausencia dentro del complejo tiene como consecuencia el no reconocimiento de este ligando por parte de TLR4.⁵¹

Polimorfismos del receptor TLR4 y su asociación a glaucoma

El gen de TLR4 se localiza en el cromosoma 9 y tiene una extensión de 28.5 Kb. Se han descrito diversos SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) en el gen de TLR4 los cuales se han asociado a hipo-respuestas a endotoxinas e infecciones por Gram-negativos,^{54,55,56} así como también se han involucrado en diversos padecimientos multifactoriales tales como aterogénesis, enfermedad de Crohn, cáncer de próstata, entre otros.^{57,58,59} Por ejemplo; los SNPs localizados en el dominio rico en leucina (LRR) del TLR4 tienen influencia en la capacidad del receptor para reconocer patógenos.⁶⁰ Los SNPs presentes en el dominio transmembranal, puede alterar la expresión en la membrana celular del receptor.⁵² Estos hallazgos sugieren que las variantes del gen TLR4 con función anormal, pueden contribuir con el desarrollo de diversas patologías incluidas el glaucoma.

Recientemente se han relacionado SNPs en regiones no codificantes (intrones y regiones no traducidas) del gen TLR4 con el GPAA.^{61,62} Hoy en día, no es clara la relación entre la expresión activación y señalización de TLR4 con el glaucoma, sin embargo diferentes hallazgos apoyan su relación con esta patología. Por ejemplo, se encontró una expresión incrementada de los receptores tipo toll TLR2, TLR3 y TLR4 en la microglia y astrocitos en la retina de ojos humanos con glaucoma (donantes de órganos).⁶³ Además, la administración subcutánea de lipopolisacáridos bacterianos para simular la inflamación periférica subclínica crónica en un modelo animal de glaucoma condujo a una neurodegeneración mediada por la regulación positiva de TLR4 en la retina de los animales glaucomatosos.⁶⁴

3. ANTECEDENTES

Estudios de asociación del genoma

Los estudios de asociación del genoma representan un procedimiento eficiente para el mapeo de genes en cohortes usando marcadores de alta densidad similares a los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en plataformas de microarreglos.⁶⁵

Con este procedimiento se han identificado varios loci asociados con diferentes enfermedades complejas como la diabetes mellitus y artritis reumatoide. En glaucoma, el primer estudio realizado con este procedimiento fue el de Thorleifsson y colaboradores, en 2007, identificando dos SNP (rs1048661 y rs3825942) en el gen de la proteína 1 similar a lisil oxidasa (LOXL1) localizada en el cromosoma 15q22, el cual fue asociado sólo en pacientes con glaucoma pseudoexfoliativo (GPS).⁶⁶

Posteriormente, en el 2009, Nakano y su grupo realizaron otro estudio en una población japonesa, en el que demostraron una asociación significativa de seis SNP localizados en tres diferentes loci, cromosoma 1 (ZP4; gen de la glicoproteína 4 de la zona pelúcida), cromosoma 10 (PLXDC2; gen de la proteína relacionada al

marcador 7 tumor endotelial) y cromosoma 12 (DKFZp762A217; gen de la proteína que contiene repetidos transmembranales y tetratricopéptidos).⁶⁷

Por otro lado, en el año 2010, Fan y su equipo describieron una asociación de los genes del factor de necrosis tumoral y de la proteína p53 tumoral en pacientes chinos con GPAA en el adulto.⁶⁸

En 2011, Wiggs y sus compañeros confirmaron que los genes de las caveolinas CAV1/CAV2 están relacionados con GPAA en una población caucásica de EUA. De la misma manera, en el año 2012, en una población japonesa, Osman y colaboradores determinaron que los loci 9p21 y 14q23 son de susceptibilidad para glaucoma.⁶⁹ Recientemente, en 2013 y 2014, se realizaron estudios donde se encontró que el loci GLCCI1/ICA1 y el gen FAM125B están relacionados con la PIO, un factor de riesgo para glaucoma.^{70,71}

Por lo tanto, el estudio a gran escala a través de los estudios de asociación es importante para la identificación de nuevos actores moleculares.

Estudios epidemiológicos previos sobre glaucoma

Estudios realizados advierten que la cantidad de personas en todo el mundo con glaucoma alcanzará casi 80 millones de afectados en el año 2020. Según distintos autores, en poblaciones sin antecedentes hereditarios es de 0,4 a 0,8 % y asciende cuando hay antecedentes a entre 3,5 y 19 %.⁴²

La OMS consideró que 12.3% de la personas ciegas en el mundo (en el año 2002) tuvieron como causa el glaucoma. Por otro lado, a través de una estimación proveniente de la información publicada de prevalencia, se proyectó que para el año 2020 podría haber 79.6 millones de personas afectadas por glaucoma (74% con glaucoma de ángulo abierto), con ceguera bilateral en 5.9 millones de personas con glaucoma de ángulo abierto y 5.3 millones con glaucoma de ángulo cerrado.⁷²

En una investigación realizada en el 2006 en Cuba en donde el GPAA constituye un importante problema de salud, donde está concentrada la mayor densidad poblacional de la provincia, se encuentra una incidencia de GPAA de 3,7 % en el

grupo de los mayores de 40 años de edad que ascendió a 6,6 % en el grupo de 60 años en adelante.^{73,74}

Los estudios en la población mexicana son escasos; el estudio retrospectivo de López y Gastélum del año 2006, realizado en el Hospital Civil de Culiacán, reportó una prevalencia de 1.7 a 2%. Sin embargo, la población estudiada incluyó pacientes mayores de 18 años que acudieron por primera vez a la consulta.²⁴

Otro estudio, The Los Angeles Latino EyeStudy (LALES) realizado en el 2004 a una población de 6,357 latinos con edades de 40 años o más, reportó una prevalencia de 4.74% para el GPAA.⁷⁵

En el Proyecto VER, Quigley y co-investigadores reportan los resultados de examinar a 4,774 mexicanos o mexicano-americanos en el estado de Arizona, Estados Unidos, encontrándose una prevalencia de 1.97% (IC 95%, 1.58%-2.36%) de glaucoma de ángulo abierto, incrementándose de 0.50% en los del rango de edad de 41 a 49 años hasta 12.63% en los mayores de 80 años; la prevalencia de glaucoma de ángulo cerrado fue de 0.10%. Es importante mencionar que dicho estudio epidemiológico fue diseñado primordialmente para identificar el impacto de la retinopatía diabética. En contraste, el estudio LALES se diseñó de manera óptima para estimar valores más precisos de glaucoma. En dicho estudio se demostró que la prevalencia de glaucoma de ángulo abierto en latinos fue de 4.74% (IC 95%, 4.22-5.30%) y también tenía un crecimiento exponencial relacionado a la edad que rebasaba 20% en los mayores de 80 años de edad. De manera interesante, 75% de los identificados con glaucoma no se sabía portadores del padecimiento.^{24, 76,77}

La prevalencia de glaucoma se relacionó exponencialmente al nivel de presión intraocular y cuando se estratificó la prevalencia de acuerdo al espesor corneal central medido por paquimetría ultrasónica, las personas con córneas más delgadas tenían con más frecuencia glaucoma, en comparación con quienes tenían córneas normales o gruesas.^{24,76,77}

Finalmente, en este apartado, Sakata y colaboradores demostraron que de un total de 1636 sujetos examinados en un estudio de población en Piraquara, Brasil, la

prevalencia de todos tipos de glaucoma fue de 3.4% (IC 95%, 2.5-4.3%), siendo más prevalente el glaucoma primario de ángulo abierto (2.4%) y solamente 12% de los sujetos con este tipo de glaucoma conocían de su diagnóstico. La mayoría de las evidencias científicas relacionada a la frecuencia del glaucoma en poblaciones latinoamericanas provienen de estudios, en los que la frecuencia de la enfermedad es una variable colateral a otros objetivos de estudio, o que deriva de poblaciones no abiertas.⁷⁷

En el estado nororiental de Nuevo León, México, Velasco-Gallegos y Noriega-Ramírez, en un estudio hospitalario de 277 pacientes de al menos 30 años de edad, se identificó la presencia de una elevada frecuencia de glaucoma o sospecha de glaucoma, en parte debido a un fenómeno de sesgo por consanguinidad de glaucoma.⁷⁸

Estudios epidemiológicos actuales sobre glaucoma

Se dispone de escasa información epidemiológica de sustento robusto en poblaciones latinoamericanas. Los proyectos VER y LALES, conducidos en poblaciones latinas (mayoritariamente mexicanas o mexicano-americanas) han generado datos iniciales relevantes con respecto a las principales causas que afectan la visión en ese grupo étnico minoritario de los Estados Unidos. Recientemente, se ha documentado información derivada población en países propiamente latinoamericanos, empleando estrategias epidemiológicas más rápidas, dirigidas especialmente a perfilar la magnitud de afección visual inducido por la catarata.^{75,79,80}

Por otra parte, también en México, Gilbert-Lucido y colegas condujeron un estudio de tipificación en el que se compiló la información de tres hospitales de referencia oftalmológica de la ciudad de México, en el que se encuestaron de manera específica a 1,191 personas que acudieron por vez primera a los servicios de glaucoma de estos centros, se reportó que el glaucoma primario de ángulo abierto era el tipo más común (40.6%), seguido del glaucoma primario de ángulo cerrado (8.2%).⁶

En otro orden de cosas, se identificaron algunos estudios que reportan las consecuencias funcionales del glaucoma. Céspedes-Oporto, en Bolivia, informó que en una campaña de prevención de ceguera, el glaucoma representaba la tercera causa de discapacidad visual.⁸¹

En México, Santos y Paczka, así como Aguilera y colaboradores, documentaron al glaucoma como la segunda causa de ceguera bilateral, en un estudio hospitalario y otro de campañas de detección, respectivamente.^{82,83}

Estudios epidemiológicos en México y Latinoamérica

En el año 2013, la Asamblea Mundial de la Salud aprobó el plan de acción para la prevención de la ceguera y la discapacidad visual 2014-2019, a modo de hoja de ruta para los estados miembros, la secretaría de la OMS y los asociados internacionales, con el objetivo de lograr una reducción mensurable de la discapacidad visual evitable de un 25% en el año 2019. La labor de la OMS en este ámbito se centra en reforzar los esfuerzos desplegados a nivel nacional y de países para la eliminación de la ceguera evitable, ayudar a los dispensadores nacionales de atención sanitaria a tratar las enfermedades oculares, ampliar el acceso a los servicios oftalmológicos y expandir las intervenciones de rehabilitación para personas con discapacidad visual residual. Se otorga especial importancia a la creación y el fortalecimiento de los sistemas de salud. El decenio estará centrado en la creación de sistemas de salud accesible e integral.⁸⁴

En México son escasos los estudios de prevalencia en las diferentes regiones del país; uno de ellos reporta una prevalencia de 1%.⁶ Mientras que investigaciones internacionales en poblaciones con ascendencia mexicana establecen una prevalencia de 4%. Pese a ser éste un estudio intrahospitalario, refleja la frecuencia y distribución de los subtipos de glaucoma más importantes en nuestro país.⁸⁵

En un estudio clínico epidemiológico realizado en tres hospitales de México, se observó que la variedad más común de glaucoma fue el GPAA en un 40.6%, seguido por sospecha de glaucoma en 17% y GCAC (n=98) 8.2%. La proporción de hombres y mujeres en cada variedad de glaucoma, fue mayor para el sexo

femenino. La mayoría de los diagnósticos se manifiesta en pacientes mayores de 50 años de edad, observándose que no hubo asociación estadísticamente significativa entre diabetes mellitus, hipertensión arterial, antecedente de enfermedad vascular y defecto refractivo en el GPAA.⁶

En otro estudio, que en su mayoría incluía pacientes de la Ciudad de México fueron diagnosticados clínicamente con GPAA un 26.2% superando a los pacientes con sospecha de glaucoma que se observó en un 6.5%, con glaucoma primario de ángulo cerrado (GPAC) con un 3.93.6%. En dicho estudio se concluyó que los resultados permiten visualizar por un lado la necesidad de realizar estudios multicéntricos sobre el GPAA para establecer con certeza la prevalencia nacional, además de llevar a cabo estrategias preventivas para un diagnóstico temprano y aumentar la cobertura de atención médica ante este problema de salud.⁸⁶

En Cuba se han realizado varios estudios que estiman el costo de la enfermedad en el contexto del Sistema de Salud cubano, en general, el propósito de estos ha sido aportar información para tomar decisiones y elevar la eficiencia de los servicios. Sin embargo, no aparecen referencias en la búsqueda bibliográfica realizada en el marco de este trabajo, de investigaciones que determinen el costo de la enfermedad en oftalmología.⁸⁷

También en Cuba, se realizó un estudio retrospectivo, en el campo de la Evaluación Económica en Salud; un estudio parcial del tipo de descripción de costos, que aplicó el enfoque metodológico del costo de la enfermedad y empleó la Guía Metodológica para las Evaluaciones Económicas en Salud en Cuba. Se tuvieron en cuenta los costos ocurridos en la atención y el tratamiento de los pacientes durante el 2010. Se utilizaron los costos clasificados como costos directos sanitarios y no sanitarios, costos fijos, costos variables, costos totales, y costos promedio, expresados en pesos cubanos del 2010. Este estudio se realizó a partir de las perspectivas de la institución y la del paciente. De tal manera, se registraron aquellos costos que se relacionaban con los servicios de salud prestados por el sistema en cuestión y los que se correspondían con los gastos de bolsillo del paciente. Se basó en el enfoque

de la prevalencia de la enfermedad y se combinaron técnicas cuantitativas y cualitativas.⁸⁸

El estudio incluyó 110 pacientes, 71% fueron del sexo femenino y 29% fueron del sexo masculino. La edad promedio fue de 60,3 años de edad, con mayor frecuencia de pacientes entre 60 y 69 años de edad. El tiempo promedio de diagnosticado el GPAA fue de 10.3 años. De los pacientes estudiados, 50.0 % tenían más de 10 años de diagnosticada la enfermedad 30.91 % de los pacientes tenían un tiempo entre 10 y 5 años y el 19.09 % de los pacientes tenían menos de 5 años. El número de consultas promedio en los pacientes del estudio fue de 3.79 en el año. El costo promedio anual de la atención a un paciente con GPAA en la institución fue de 230.99 pesos cubanos, que osciló en el rango de 152.79 hasta 448.89 pesos cubanos (IC 95 %: 174.02-287.96), y un costo total anual de 25 408.50 pesos cubanos en el año 2010 para la atención de los 110 pacientes estudiados. Del total de pacientes, solo 8 (7.27 %) habían necesitado tratamiento quirúrgico para el control de la enfermedad, pero antes del período de estudio. De los pacientes estudiados, 106 (96.36 %) estaban utilizando tratamiento farmacológico. El costo promedio anual del GPAA para el paciente en el período analizado fue de 290.10 pesos cubanos, y se encontró en un rango amplio de 59.00 hasta 5 099.00 pesos cubanos.³⁶

Se observó que el costo total anual de la atención institucional a los 110 pacientes con GPAA incluidos en el estudio fue de 25 408.50 pesos cubanos, que representó el 0.09 % del presupuesto anual del hospital "Dr. Salvador Allende" del 2010 que fue de 26 millones de pesos cubanos. La mitad de los costos institucionales están dados por los estudios diagnósticos que permiten establecer el nivel de progresión de la enfermedad. El costo institucional se incrementó fundamentalmente por el número de consultas de seguimiento que requiere el paciente en función de la evolución de la enfermedad.³⁶

El costo para el paciente se incrementó a partir de la utilización de transporte de alquiler para acudir a consulta y, en menor medida, por adquirir medicamentos en las farmacias internacionales del país cuando existen contraindicaciones para el uso

de los fármacos disponibles en las farmacias comunitarias. El costo de los medicamentos resultó accesible a todos los pacientes.³⁶

En la literatura internacional existen referencias sobre el costo directo del glaucoma primario de ángulo abierto. Así, en el trabajo sobre costos institucionales del glaucoma y la hipertensión ocular realizado por Kolevay otros, el número promedio de consultas anuales en los pacientes con glaucoma fue de 3,68. Los autores refieren un costo promedio por consulta de oftalmología de 206.4 EUR y un costo promedio por pruebas diagnósticas de 99.6 EUR, a los que se adicionan los costos por medicamentos, cirugía y hospitalización para un costo promedio anual de atención al paciente de 734.3 EUR.⁸⁹

Un estudio sobre el costo del glaucoma para el sistema de salud en Estados Unidos, estimó un total de 2.5 mil millones anuales; de los cuales 1.9 mil millones constituyeron costos directos y \$0.6 mil millones costos indirectos.⁹⁰

Las investigaciones sobre las implicaciones sociales y económicas del glaucoma, refieren que los costos de la atención al paciente con esta enfermedad aumentan a medida que empeora la enfermedad y que la efectividad en el manejo del paciente y el retraso en la progresión de la enfermedad pueden reducir significativamente su carga económica. Además, resaltan la necesidad de realizar estudios enfocados en la perspectiva social para respaldar sus conclusiones.^{39,91,92}

En un estudio del 2006, realizado en Estados Unidos sobre la carga económica total anual de los trastornos visuales más importantes en los adultos, se planteó que el costo económico ascendió a US 35.4 mil millones: 16.2 mil millones en costos médicos directos, 11.1 mil millones en otros costos directos y 8 mil millones en pérdidas de productividad. En particular, los gastos médicos directos para cada una de las afecciones estudiadas fueron: 6.8 mil millones para la catarata, 5,5 mil millones para los trastornos refractivos, 2.9 mil millones para el glaucoma, 575 millones para la degeneración macular asociada a la edad y \$493 millones para la retinopatía diabética.⁹³

Estos datos permiten reflexionar sobre la necesidad de realizar estudios de costo de la enfermedad en el contexto de México, no solo del GPAA, sino también de otros trastornos visuales.

Determinantes Sociales en el GPAA

Un abordaje integrado para investigar la enfermedad y su prevención necesariamente requiere comprender: niveles de causalidad, trayectorias de curso de vida, tipos de causas, y tipos de enfermedades. Esta perspectiva, llamada eco-epidemiología, se incluye en el universo mayor de la epidemiología social. Berkman y Kawachi definen a la Epidemiología Social como la rama de la epidemiología que estudia la distribución social y los determinantes sociales de los estados de salud. Esto surge del hecho que los determinantes de las diferencias en las características individuales dentro de una población pueden ser distintas de los determinantes de las diferencias entre poblaciones. Esto tiene implicaciones, tanto para la comprensión de las causas, como para las estrategias de prevención en la salud pública. La "epidemiología social", se distingue por su empeño en investigar explícitamente los determinantes sociales de las distribuciones de la salud, la enfermedad y el bienestar en las poblaciones, en vez de tratar dichos determinantes como un simple trasfondo de los fenómenos biomédicos. La epidemiología social tiende a los desarrollos teóricos (reflexión e investigación sobre los determinantes sociales) alejados de la acción, debido a los limitantes para cambiar las políticas públicas. Otras diferencias se sitúan en el nivel de intervención (micro/macroespacios), el objeto de intervención (control del brote frente a control de las desigualdades) y en la forma de articular la comunicación con la sociedad.^{94,94,95}

El reconocimiento que los factores sociales y medioambientales influyen decididamente sobre la salud de las personas es antiguo. Las raíces directas de los esfuerzos contemporáneos para identificar y atacar las desigualdades de salud socialmente-determinadas se encuentran en el Informe Lalonde (1974). El Informe Lalonde fue uno de los primeros estudios que propuso un marco comprensivo para los determinantes de salud, incluyendo los estilos de vida, el ambiente social y

físico, la biología humana y los servicios de salud. Actualmente estos determinantes son 12: 1. El ingreso y el estatus social 2. Las redes de apoyo social 3. La educación 4. El empleo/las condiciones de trabajo 5. Los ambientes sociales 6. Los ambientes físicos 7. La práctica de salud personal y las habilidades para cubrirse 8. El desarrollo infantil saludable 9. La biología y la dotación genética 10. Los servicios de salud 11. El género 12. La cultura. En el año 2003, la OMS Regional para Europa publicó la segunda edición de "Los Determinantes Sociales de la Salud. Los hechos contundentes".⁹⁶

Dentro de los determinantes sociales propuestos por la OMS y por el ministerio de Salud de Canadá se encuentran la "Biología y el patrón genético", este determinante propuesto únicamente por el Ministerio de Salud de Canadá no se incluye en los determinantes propuestos por la OMS. Sin embargo consideramos inminente su importancia debido a que es el principal aspecto de nuestra investigación. A pesar de lo anterior, el desarrollo del GPAA, obedece no únicamente al aspecto genético, desde el punto de vista de la Salud Pública, determinantes como Educación, Gradiente Social (Ingreso y estatus social), Servicios de salud y cultura, son determinantes sociales de peso importante que intervienen en la aparición, detección, tratamiento e incluso en la evolución del glaucoma. El factor genético forman parte de la susceptibilidad individual, mientras que las causas de enfermedad que afectan las poblaciones son ambientales y cambian más rápidamente que los genes, reflejando la forma de vida del conjunto.^{97,98}

La Educación como determinante social influye en la progresión del glaucoma, se basa principalmente en que las personas con mayor nivel educativo, también tienen mayor probabilidad de obtener un empleo mejor remunerado, lo que les permite tener un mejor y más amplio acceso a servicios médicos, de igual manera este determinante también se relaciona con la rapidez con la que el paciente acude al servicio de salud, ya que se ha observado que las personas con bajo nivel educativo puede tener ideas preconcebidas como el hecho de que la pérdida o disfunción de la visión es un fenómeno "normal" asociado con el envejecimiento. Es decir el nivel educativo es un factor que influye directamente en la obtención de información por

parte del individuo y de esta información dependerá en gran medida la atención oportuna a su padecimiento.^{97,98}

El gradiente social o estatus social, está íntimamente relacionado con el nivel educativo. Como ya se mencionó anteriormente también se observa que a menor gradiente social la esperanza de vida es menor y se observa además un aumento en la probabilidad de padecer enfermedades así como en mayor dificultad para obtener un tratamiento oportuno. En relación a los Servicios de Salud, especialmente aquellos diseñados para promover y mantener la salud, para prevenir la enfermedad, y restaurar la salud y la función, contribuyen a la salud de la población.^{97,98}

El continuo de servicios de atención de la salud incluye la prevención secundaria y terciaria, pero en nuestro medio no se cuenta con un programa de salud dirigido a la detección de casos tempranos de glaucoma, aun con el conocimiento de que la única opción terapéutica con la que se cuenta en la actualidad es detección oportuna y técnicas para el freno temporal de la enfermedad. Se suma a lo anterior la importancia del estilo de vida del individuo, se ha relacionado el Glaucoma Primario de Angulo abierto en pacientes que cursan con Diabetes Mellitus e Hipertensión Arterial, si bien no está clara aun la relación entre estas, estudios recientes han demostrado que los pacientes que cursan con enfermedades crónicas metabólicas en buen control, responden mejor al tratamiento del glaucoma.^{97,98}

Estudios genéticos sobre glaucoma

La posibilidad de una relación genética en el glaucoma fue descrita por primera vez en 1842 por Benedict, debido al hallazgo de dos hermanas afectadas por la enfermedad.^{2,99}

La investigación de la genética molecular del GPAA ha progresado considerablemente desde que se encontró la primera región cromosómica ligada a la enfermedad en el brazo largo del cromosoma 1 (GLC1A), donde se logró la identificación del gen de la miocilina (MYOC) en 1q23-q25.^{100,101}

Este gen se ha encontrado asociado a una forma de presentación de la enfermedad muy agresiva, con una edad de comienzo variable, con presiones intraoculares muy altas y de difícil manejo. Posteriormente, se realizaron estudios en diversas familias encontrándose otras regiones cromosómicas con genes implicados en la enfermedad, como el de optineurina (OPTN) en 10p15-14 y WDR36 en 5q21.3-5q22.1.^{102,103}

La importancia del componente genético de GPAA, radica en que familiares de pacientes tienen una alta probabilidad de presentar la enfermedad. Así por ejemplo, si un individuo está afectado, existe una probabilidad de hasta 16% de que algún familiar suyo también tenga la enfermedad, comparado con el 1-2% de estar afectado en la población general.¹⁰⁴

En el glaucoma crónico de ángulo abierto se han descrito diferentes genes asociados, por ejemplo; el GLC1B, localizado en el cromosoma 2 (2cen, q13) y el GLC1C localizado en el cromosoma 3 (3q21- q24). El GLC1B se encuentra asociado a glaucoma crónico de ángulo abierto de presión normal y el GLC1C se asocia a glaucoma crónico de presión alta.¹⁰⁴

Un estudio reciente con el objetivo de localizar un loci de susceptibilidad para glaucoma, determinó que el CAV1 / CAV2 (HGNC: 1527 / HGNC: 1528) en el locus 7q34 puede estar asociada con el glaucoma primario de ángulo abierto en poblaciones derivadas-Europea. Este hallazgo ha sido replicado por estudios independientes.¹⁰⁵

Estos genes codifican las proteínas (caveolinas) que participan en la generación y función de caveola, que son invaginaciones de la membrana celular que participan en la señalización celular y endocitosis. El CDKN2BAS (HGNC: 34341). Locus en 9p21 ha demostrado estar relacionada con el riesgo de glaucoma en múltiples cohortes.¹⁰⁶

El mecanismo por el cual estos genes podrían contribuir a glaucoma primario de ángulo abierto no está clara, pero puede interactuar con factor de crecimiento transformante β , una molécula de la regulación del crecimiento celular y la

supervivencia en todo el cuerpo. A pesar de los resultados prometedores, los genes de susceptibilidad que se han identificado hasta la fecha para el glaucoma primario de ángulo abierto sólo tienen un tamaño modesto efecto en la explicación de riesgo de glaucoma.¹⁰⁶

Salud pública y genómica

La medicina genómica se define como el uso sistemático de las variaciones genómicas para determinar factores de protección o de riesgo genético a enfermedades comunes. Este nuevo paradigma brinda a la salud pública la oportunidad de desarrollar conocimientos que ayuden a prevenir o retrasar el inicio de muchas enfermedades comunes de manera más individualizada.¹⁰⁷

En este sentido, la lista de nuevos retos ético-sociales que enfrenta la genómica humana es larga e incluye las pruebas genéticas, la privacidad de la información, la modificación de células humanas (línea germinal y somática) para el tratamiento de enfermedades, la clonación reproductiva y con fines terapéuticos, la extracción y uso de células madre embrionarias, la prolongación de la vida, la eugenesia, los biobancos, la redefinición del concepto "raza", las patentes genéticas y su comercialización, y la aplicación en la medicina forense y en las armas biológicas.¹⁰⁷

Dentro de esta nueva realidad, es claro que todos los países han debido esforzarse por actualizar sus marcos normativos para que garanticen que la aplicación de los bienes y servicios derivados de la genómica respete los derechos humanos. Sin embargo, en gran parte del mundo en desarrollo, al no contarse con marcos legales y normativos adecuados para regular la investigación genética, los países han encontrado serias dificultades para llevar adelante la actualización de leyes y políticas relacionadas con genómica humana.¹⁰⁷

La investigación en genómica humana (GH) es un campo multidisciplinario que concierne a la traducción responsable y efectiva del conocimiento y las tecnologías basadas en el riesgo genómico. Busca utilizar los datos de la variación genómica (a nivel clínico y poblacional) y las interacciones gen-ambiente, para desarrollar,

implementar y evaluar herramientas basadas en evidencia científica, dirigidas al mejoramiento de la salud, la atención médica y la prevención de enfermedades.¹⁰⁸

El implementar la investigación en GH aplicada en el área de la salud es una herramienta con potencial para mejorar la salud global.⁴ La equidad en los servicios y el acceso a los beneficios de la medicina genómica son un reto ético y legal, una vez obtenidos resultados tangibles de la investigación, y se generen servicios, la población o algunos sectores podrán tener acceso a estos. Los cambios políticos estructurales deben dirigir los recursos económicos de atención de la salud a sectores vulnerables. La primera necesidad es establecer marcos jurídicos ideales para el desarrollo de una agenda de investigación que contemple las necesidades del país, abordando la problemática de la salud desde el área biomédica, clínica, epidemiológica y psicosocial. Esto es indicativo de que la mayoría de los resultados de la investigación en genómica deben estar encaminados al tratamiento de enfermedades crónicas prevalentes, con el fin de medir la susceptibilidad genómica antes del establecimiento de las mismas en la población mexicana.¹⁰⁹

En un país con una desigualdad económica tan marcada como México, el principio ético de equidad en el acceso a los beneficios de la medicina genómica debe ser tratado como un tema prioritario. La integración de todos los sectores que componen el Sistema Nacional de Salud será clave en lograr disminuir esa brecha y evitar que esta continúe avanzando. En la actual política mexicana, la equidad, y no solo en el acceso a los servicios de salud, se constituye un tema obligado, tanto para la acción del gobierno, pero no como algo lírico o enunciativo en los planes y programas que se propongan, sino que debe tenerse presente en toda acción de política económica y de política social.¹⁰⁹

En los países en desarrollo, específicamente en América Latina (AL), los efectos de la globalización en la salud pueden ser benéficos en términos del mejoramiento de sus propios sistemas de salud, por medio del diseño de políticas que abarquen la transferencia de conocimiento y tecnología en las áreas de investigación social y biomédica. Así se generarán productos que se traduzcan en el perfeccionamiento

de sus servicios médicos con énfasis en la prevención de enfermedades y atención clínica.¹⁰⁷

En un estudio con el objetivo de realizar una descripción comparativa del marco normativo de genética humana en AL, los resultados indican que los países de AL no tienen una perspectiva a futuro sobre Genoma Humano (GH), ya que no regulan las tecnologías y la investigación en ciencias genómicas; hay pocas leyes y políticas en español. Asimismo, solo se busca firmar tratados internacionales pero no se adaptan a las realidades regionales. La comunidad académica tiene la responsabilidad de promover y difundir los conocimientos relacionados con la ética y los instrumentos normativos a través de la educación, la investigación y la difusión.¹¹⁰

Las nuevas áreas de investigación y aplicación médica de la investigación en GH ponen a prueba la naturaleza de la tarea legislativa de los países de AL en la materia, ya que esta es una disciplina cuyo desarrollo exige un alto nivel técnico en la elaboración normativa y un desempeño ético impecable. Por lo tanto, es indispensable actuar con sentido de responsabilidad, manteniendo las libertades individuales y, al mismo tiempo, velando por el bienestar colectivo.¹¹⁰

Una nueva seguridad jurídica en materia de genoma humano y sus aplicaciones a la salud para generar controles democráticos que permitirán cohesionar los avances de la investigación científica, las libertades individuales y públicas, la equidad social y los valores éticos. Para ello se debe adoptar un sistema permanente de transferencia de información sobre regulación en materia de GH, e impulsar un programa de información para legisladores y tomadores de decisión política.¹¹⁰

Medicina personalizada

El término "medicina personalizada", aparece cada vez más frecuentemente citado para representar la configuración de un modelo de atención sanitaria ajustado al individuo y mediado por la introducción de los avances tecnológicos.¹¹¹

Aunque pueda parecer o pretenderse lo contrario, no hay contradicción entre la medicina social, enfocada hacia la atención de las comunidades en el nivel primario,

y los principios y resultados de la medicina personalizada. Por un lado, la definición de la "individualidad" no es necesariamente tan estricta y la presencia o ausencia de un marcador o determinada cualidad puede determinar un subconjunto dentro de una población; de ahí que puede implementarse por tal razón un programa de pesquisa para la detección de tales sujetos, o resultar que la terapéutica que es efectiva para uno pueda serlo igualmente para varios. La era de la medicina molecular ha generado, en primer término, una extensión casi ad infinitum de las enfermedades conocidas en nuevos tipos, subtipos y divisiones sucesivas que demandan, en cada caso, medidas terapéuticas diferenciadas.¹¹²

Los aportes al conocimiento de las bases estructurales y funcionales de la vida se entrelazan con derivaciones hacia el diagnóstico, el tratamiento, aspectos éticos y bioéticos, consideraciones económicas, consecuencias en los órdenes antropológico y sociológico, así como el debate sobre el inicio, el fin, la prolongación y la manipulación de la vida humana, la comercialización de los resultados científicos y sus aplicaciones médicas, el sinsentido de las razas.¹¹²

Catalogado entre los grandes avances del siglo XX, si bien se extiende hasta y se consolidará en la presente centuria, el Proyecto Genoma Humano (PGH) ha revolucionado ya la manera de ver y hacer la biología y la medicina.¹¹³

El diagnóstico genómico ha permitido discernir mejor las diferencias o variaciones individuales en nuestra especie, las cuales no siempre son causa de enfermedad, si bien otras pueden condicionar algún riesgo para la salud.¹¹⁴

La comparación de todo el genoma o parte de él entre grandes series de sujetos enfermos y otros aparentemente sanos ha revelado la existencia de sutiles diferencias, de apenas unas pocas bases, cuyo efecto en la fisiología del organismo puede ser más o menos significativo.¹¹⁴

El propósito de este estudio fue determinar la asociación de SNPs del gen TLR4 con GPAA en población mexicana, con el fin de generar un indicador útil en la identificación de casos tempranos de glaucoma.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Recientemente, se han asociado de manera significativa SNPs del gen TLR4 con el GPAA, glaucoma primario de tensión normal (GPTN) y glaucoma pseudoexfoliativo en población japonesa.²² El gen TLR4 es un gen candidato para el glaucoma, dado que diversa evidencia ha demostrado que su señalización y expresión se ve incrementada en la retina de los pacientes que lo padecen, así como en la retina de animales a los cuales se les induce faño glaucomatoso del nervio óptico.

Debido a que en México la principal forma de glaucoma lo constituye el GPAA y los estudios que identifican marcadores genéticos para esta patología son escasos en nuestra población, resulta pertinente revisar la asociación de riesgo de los SNPs del gen TLR4 con glaucoma en población del occidente de México.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los polimorfismos del gen del receptor tipo Toll4: rs11536889, rs1237763, rs2149356, rs1927911, rs4986791 y rs4986790 constituyen un factor de riesgo genético (OR mayor a 2) para el GPAA en población del occidente de México?

6. JUSTIFICACIÓN

La identificación de marcadores genéticos asociados a enfermedad permite la identificación de poblaciones e individuos en riesgo. Al identificar sujetos en riesgo de enfermedad, es posible implementar en éstos programas de prevención y detección temprana, así como también brindar terapias oportunas que eficientemente limiten el daño.

En México, son escasos los estudios epidemiológicos que identifican marcadores genéticos asociados a GPAA, por lo que es oportuno realizar la búsqueda de estos con el fin de que el médico-clínico cuente con una herramienta diagnóstica y preventiva que le permita modificar el curso o historia natural de la enfermedad, en particular que le permitan prevenir la ceguera relacionada al glaucoma. Conscientes de la importancia de poseer los marcadores genéticos como instrumentos

diagnósticos, en el presente estudio buscamos identificar polimorfismos genéticos (SNPS) en el gen de TLR4 asociados al riesgo de GPAA en población del occidente de México.

7. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el riesgo genético (OR) que representan los polimorfismos de un solo nucleótido del TLR4 para el GPAA en población del occidente de México.

Objetivos específicos

1. Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs rs4986790, rs4986791, rs1927911, rs2149356, rs11536889 y rs12377632 del TLR4.
2. Comparar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos de TLR4, entre un grupo de individuos mexicanos no emparentados de población general (controles) y un grupo de pacientes mexicanos con diagnóstico de GPAA (casos).
3. Calcular el riesgo (OR) asociado al glaucoma que confieren los alelos y genotipos de los SNPs de TLR4 estudiados en población del occidente de México.
4. Determinar la frecuencia de haplotipos presentes en los sujetos de estudio y estimar el riesgo (OR) asociado al glaucoma que confieren dichos haplotipos identificados en población del occidente de México.

8. HIPÓTESIS

Ho: Los polimorfismos de TLR4 no se asocian con riesgo (OR mayor a 2) para el GPAA en población del occidente de México.

Hi: Los polimorfismos de nucleótido único de TLR4 se asocian con riesgo (OR mayor a 2) para el GPAA en población del occidente de México.

9. METODOLOGÍA

Tipo de estudio y diseño general

Se realizó un estudio clínico genético de casos y controles, en el que las distribuciones alélicas y genotípicas de los SNPs de TLR4 fueron comparadas entre individuos mexicanos libres de glaucoma (controles) y con diagnóstico de GPAA (casos).

Universo de estudio

Pacientes del Hospital General de Zona 1, delegación Nayarit del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Selección y tamaño de muestra

Se determinó la unidad de observación (muestra) recurriendo a las fórmulas habituales para determinar el tamaño muestral mínimo necesario para la comparación de dos proporciones.¹⁰⁹

Considerando una frecuencia de exposición en los controles de 0.3 y una frecuencia de exposición de 0.5 para los casos, un OR esperado de 2, un nivel de seguridad del 95% y un poder estadístico del 80% se concluye: Se requieren incluir al menos 93 casos y 93 controles para detectar como significativo un valor del odds ratio de 2.

Unidad de análisis

187 casos (pacientes con GPAA) y 109 controles.

Unidad de Observación

Las condiciones clínicas oftalmológicas de casos y controles así como la presencia o no del SNP.

Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión

Casos

1. Pacientes de sexo masculino y/o femenino.
2. Mayores de 40 años (con el fin de evitar las formas juveniles de GPAA).
3. Diagnóstico de GPAA atendiendo los siguientes criterios:
 - a. Presión intraocular >22 mm Hg determinada por el método de aplanación.
 - b. Relación copa/disco óptico >0.7
 - c. Defectos de campo visual documentado por perimétrica estática automatizada de Humphrey consistente con el aspecto del disco óptico.
 - d. Ángulo de cámara anterior abierto a la gonioscopia con lente de Goldman.

Controles

1. Pacientes de sexo masculino y/o femenino.
2. Edad superior a 60 años (con el fin de limitar la posibilidad de estudiar individuos con glaucoma presintomático).
3. Presión intraocular <22 mm Hg determinada por el método de aplanación.
4. Relación copa/disco óptico <0.7
5. Ausencia de historia familiar de glaucoma.

Criterios de No Inclusión

Individuos con opacidad de medios ópticos que impidan la adecuada valoración de la papila óptica tales como portadores de leucomas corneales o catarata densa.

Criterios de Exclusión

Pacientes emparentados con otros individuos que reúnan las condiciones de caso o control.

Procedimiento de selección de casos y controles

A través de campaña de detección de Síndrome de Ojo Seco, se identificaron a los potenciales controles y se les informó de los objetivos y alcances del estudio, así como de los riesgos y beneficios, obteniéndose así su consentimiento informado (Anexo 1). Se aplicó un cuestionario con el que se recabó la historia médica (Anexo 2). Se citó a valoración oftalmológica en el consultorio de Segmento Anterior del servicio de Oftalmología, determinándose la PIO y evaluándose las características del disco óptico. Cabe mencionar que la evaluación clínica de los controles no requirió de asistencia especial o acompañante. Los métodos utilizados fueron los empleados de manera rutinaria y no disminuyeron la calidad o capacidad visual de los sujetos. Los casos fueron obtenidos a partir de la consulta externa de del Servicio de Oftalmología del Hospital General de Zona 1, delegación Nayarit del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Procedimiento de obtención de DNA genómico y genotipificación

A los sujetos incluidos en el estudio se les tomó previa asepsia y antisepsia, una muestra de 5 ml. de sangre periférica por punción venosa en tubo vacutainer con EDTA como anticoagulante. Se centrifugaron las muestras sanguíneas y se obtuvo la fracción no celular. Se realizó la obtención de leucocitos para la extracción de ADN acorde al método de extracción de Qiagen QIAmp DNA Blood Kit, protocolo de extracción de DNA genómico (Anexo 3) Se determinó la cantidad y calidad del DNA por espectrofotometría (lectura a 260 y 280 nm) y electroforesis en geles de agarosa al 0.8% (Anexo 4). La genotipificación y determinación de alelos se realizó mediante la amplificación de los SNPs estudiados del gen de TLR4 mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando el sistema de sondas "Taqman SNP Genotyping Assay" (Applied-Biosystem, Foster City, CA, USA),

protocolo de genotipificación por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Anexo 5).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se expresan en el caso de variables cuantitativas como medias \pm desviación estándar y en el caso de variables cualitativas como frecuencias, proporciones y porcentajes. El equilibrio de Hardy-Weinberg se realizó comparando las frecuencias observadas y esperadas mediante la prueba X^2 con corrección de Yates. La comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los diferentes polimorfismos entre los casos y controles se realizó mediante la prueba no paramétrica X^2 o prueba exacta de Fisher, considerándose un valor de $P < 0.05$ como significativo. Los haplotipos inferidos, así como el cálculo del desequilibrio de ligamiento expresado como D' , fueron estimados mediante el programa estadístico SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>).¹¹⁵ El riesgo para el desarrollo de GPAA asociado a los alelos, genotipos y haplotipos de estudio se expresó como Odds Ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95% (se utilizó para este propósito el mismo paquete estadístico).

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pacientes

Se analizaron un total de 187 casos (pacientes con GPAA) y 109 controles. La edad promedio de los casos fue de 63.28 ± 7.93 y la de los controles de 66.49 ± 11.71 ($p=0.081$). Existió diferencia significativa en la frecuencia de Diabetes Mellitus y en la proporción de sexo entre los casos y controles. No se observó diferencia en la frecuencia de Hipertensión Arterial Sistémica entre los grupos (tabla 1).

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el análisis de polimorfismos de nucleótido único del gen del receptor tipo Toll 4.

Variable	CONTROL (n=109)	GLAUCOMA(n=187)	P
Edad (años)	63.28 \pm 7.93	66.49 \pm 11.71	0.081*
Género (n)			
Femenino	69 (63.30%)	93 (49.73%)	0.024†
Masculino	40 (36.69%)	94 (50.26%)	
DM (n)			
SI	51 (46.78%)	61 (32.62%)	0.015†
No	58 (53.21%)	126 (67.37%)	
HAS (n)			
SI	53 (48.62%)	78 (41.71%)	0.248†
No	56 (51.37%)	109 (58.28%)	

DM, Diabetes Mellitus; HAS, Hipertensión arterial sistémica; *, t de student; †, ji cuadrada.

Alelos y genotipos

La totalidad de los SNPs estudiados se encontraron en equilibrio de Hardy Weinberg en los casos y controles ($P>0.05$). Las frecuencias de los alelos y genotipos de los

seis SNPs en los casos de glaucoma y los sujetos de control se muestran en la tabla 2 y 3. La frecuencia del alelo ancestral fue menor en el grupo de GPAA (a excepción de lo observado en rs11536889). Como se observa en la tabla 2, la exposición al alelo menor se asoció al riesgo de desarrollo de GPAA en 4 de los 6 SNPs, alcanzando valores de OR de hasta 4.4792 (IC 95%=1.4635-13.7089) para el rs4986790.

Tabla 2. Frecuencia de alelos de polimorfismo de un solo nucleótido del gen del receptor tipo Toll 4 en población del occidente de México.

SNP	GPAA n=374 (%)	Control n=218 (%)	OR*	IC 95%
rs11536889 G/C	332 (88.77)	190 (87.15)	0.8584	0.5153-1.4300
rs12377632 C/T	143 (38.23)	105 (48.16)	1.501	1.0712-2.1032
rs2149356 G/T	222 (59.35)	158 (72.47)	1.803	1.2578-2.5845
rs1927911 G/A	253 (67.64)	162 (74.31)	1.3835	0.9530-2.0085
rs4986791 C/T	351 (93.85)	214 (98.16)	3.5057	1.2719-9.6623
rs4986790 A/G	352 (94.11)	215 (98.62)	4.4792	1.4635-13.7089

Se presenta la frecuencia del alelo ancestral .OR calculado para la exposición al alelo menor. GPAA= glaucoma primario de ángulo abierto; IC= intervalo de confianza; OR; Odds Ratio; SNP=.polimorfismo de un solo nucleótido.

Tabla 3. Frecuencia de genotipos de polimorfismos de un sólo nucleótido del gen del receptor tipo Toll 4 en población del occidente de México.

GPAA	Control n= 187	Control n= 109	P*
rs11536889 G/C			
GG	146 (78.07 %)	84 (77.06 %)	0.29
CC	1 (0.53 %)	3 (2.75 %)	
CG	40 (21.39 %)	22 (20.18 %)	
rs12377632 C/T			
CC	27 (14.43 %)	27 (24.77 %)	0.056
TT	71 (37.96 %)	31 (28.44 %)	
CT	89 (47.59 %)	51 (46.78 %)	
rs2149356 G/T			
GG	61 (32.62 %)	61 (55.96 %)	0.0004
TT	26 (13.9 %)	12 (11 %)	
GT	100 (53.47 %)	36 (33.02 %)	
rs1927911 G/A			
GG	83 (44.38 %)	64 (58.71 %)	0.03
AA	17 (9.09 %)	11 (10.09 %)	
GA	87 (46.52 %)	34 (31.19 %)	
rs4986791 C/T			
CC	165 (88.23 %)	105 (96.33 %)	0.035
TT	1 (0.53 %)	0 (0 %)	
CT	21 (11.22 %)	4 (3.66 %)	
rs4986790 A/G			
AA	166 (88.77 %)	106 (97.24 %)	0.0018
GG	1 (0.53 %)	0 (0 %)	
AG	20 (10.69 %)	3 (2.75 %)	

*OR calculada para el modelo dominante. GPAA= glaucoma primario de ángulo abierto; IC= intervalo de confianza; OR; Odds Ratio; SNP= Polimorfismo de un solo nucleótido.

En lo inherente a los genotipos (tabla 3), se observó que hubo diferencia significativa en la frecuencia de estos entre casos y controles en 5 de los SNPs analizados. La excepción fue el SNP rs11536889. Considerando el modelo de análisis dominante para los SNPs con variación significativa, se observó asociación de riesgo para GPAA en los genotipos de que incluyeron al alelo menor, siendo el rs4986790 A/G el de riesgo más elevado (OR= 4.4699; IC 95%= 1.4286-13.9854). Los detalles pueden observarse en la tabla 4.

Tabla 4. Riesgo asociado a los genotipos de polimorfismos de un solo nucleótido determinado por el modelo dominante.

SNP	GPAA n= 187	Control n= 109	OR*	IC 95% (P)	P
rs11536889 G/C					
GG	146 (78.07 %)	84 (77.06 %)	1		
CC + CG	41 (21.9 %)	25 (22.9 %)	0.9436	0.5357-1.6619	0.84
rs12377632 C/T					
CC	27 (14.43 %)	27 (24.77 %)			
TT + CT	160 (85.6 %)	82 (75.2 %)	1.9512	1.0804-3.5240	0.028
rs2149356 G/T					
GG	61 (32.62 %)	61 (55.96 %)	1		
TT +GT	126 (67.4 %)	48 (44 %)	2.625	1.6219-4.2485	0.0001
rs1927911 G/A					
GG	83 (44.38 %)	64 (58.71 %)	1		
AA +GA	104 (55.6 %)	45 (41.3 %)	1.7821	1.1061-2.8711	0.017
rs4986791 C/T					
CC	165 (88.23 %)	105 (96.33 %)	1		
TT + CT	22 (11.8 %)	4 (3.7 %)	3.5	1.2415-9.8668	0.012
rs4986790 A/G					
AA	166 (88.77 %)	106 (97.24 %)	1		
GG + AG	21 (11.2 %)	3 (2.8 %)	4.4699	1.4286- 13.9854	0.0054

*OR calculada para el modelo dominante. GPAA= glaucoma primario de ángulo abierto; IC= intervalo de confianza; OR; Odds Ratio; SNP=. polimorfismo de un solo nucleótido.

Análisis de haplotipos

Todos los SNPs se localizaron en el mismo bloque haplotípico con una D' superior a 0.90 con excepción de la asociación que involucro al rs12377632 en el cual se estimó un valor D' de 0.3447. Del análisis de la frecuencia de haplotipos en casos y controles, se identificó al haplotipo rs4986790,rs4986791 rs1927911, rs2149356 rs12377632, rs11536889 (ACGGCG) como factor protector significativo para el GPAA (OR=0.56; IC 95% 0.35 - 0.89, P= 0.015). Los detalles del análisis de riesgo de los haplotipos pueden observarse en la tabla 5.

Tabla 5. Frecuencia de haplotipos de los polimorfismos de un solo nucleótido del gen del receptor tipo Toll 4 estudiados en población del occidente de México.

SNPs rs4986790,rs4986791,rs1927911, rs2149356,rs12377632, rs11536889	GPAA	Control	OR (IC 95%)	P
ACATTG	0.285381	0.241934	1	
ACGGCG	0.232242	0.352041	0.56 (0.35 - 0.89)	0.015
ACGGTG	0.233832	0.239687	0.82 (0.50 - 1.33)	0.42
ACGGCC	0.101631	0.12844	0.68 (0.37 - 1.27)	0.23
GTGTTG	0.048952	0.013761	2.82 (0.27 - 29.85)	0.39
ACGTTG	0.02462	0.004602	3.64 (0.48 - 27.53)	0.21

Se presenta la proporción encontrada de haplotipos por grupo. GPAA= glaucoma primario de ángulo abierto; IC= intervalo de confianza; OR; Odds Ratio; SNPs= polimorfismos de un solo nucleótido.

Discusión

Los TLRs están involucrados en la defensa de la inmunidad innata contra los microorganismos y se les considera como un vínculo entre la inmunidad innata y adaptativa.¹¹⁶ El receptor tipo Toll 4 (TLR4) es un receptor de lipopolisacáridos así como de otros ligandos exógenos o endógenos. Este receptor celular inicia la producción de citoquinas pro-inflamatorias como interleucinas 1, 6 y 8 (IL-1, 6 Y 8) y factor de necrosis tumoral - α (TNF- α),¹¹⁷ Este fenómeno de síntesis de proteínas pro-inflamatorias es mediado por el factor de necrosis kappa B (NF - κ B). El gen del TLR4 se localiza en el cromosoma 9q32-33 y se compone de tres exones.¹¹⁸ Su secuencia de pre- ARNm es 11467 pares de bases (pb)¹¹⁹ Dos mRNAs de TLR4 de ~ 5,5 kb y 4,4 kb de tamaño, se puede detectar en todos los tejidos y son creadas por corte y empalme alternativo.^{119,120}

El gen TLR4 en el humano muestra varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), que presumiblemente influyen en la su actividad y función.¹²¹ Por ejemplo , la variación de codificación en rs4986790 del gen TLR4 conduce a variantes genéticas en el polipéptido del TLR4 , que se asocia con una respuesta menor del receptor.⁵⁶ Además, se ha informado de otra variante genética del polimorfismo de un solo nucleótido de TLR4 que se asocia con una amplia variedad de enfermedades infecciosas y no infecciosas , incluyendo la artritis reumatoide^{122,123}, asma bronquial¹²⁴, periodontitis crónica¹²⁵, la susceptibilidad a la aspergilosis pulmonar y tuberculosis^{126,127}, cáncer de pulmón¹²⁸ y el riesgo de úlcera péptica.¹²⁹ En Asia, se encontró que las variantes genéticas no codificantes del TLR4 se han implicado positivamente con el desarrollo de GPAA, glaucoma de tensión normal y pseudoexfoliación glaucoma.^{61,62} Curiosamente, hasta la fecha no se han realizado ensayos funcionales con el fin de evaluar implicación de estos SNPs no codificantes en la actividad o la expresión de TLR4. En nuestro estudio se analizaron los polimorfismos no codificantes rs1927911 G / A, rs12377632 T / C, y rs2149356 G / T localizados dentro de los intrones y el rs11536889 G / C ubicado dentro de la región no traducida 3' (3'UTR). Las posiciones de estos polimorfismos son 8595,

11271, 12740 y 16672, respectivamente (GRCh38.p2, RefSeqGene; NG_011475.1, Gene ID; TLR4 7099). Tras realizar el análisis de alelos y genotipos, hemos demostrado con éxito una asociación significativa entre los SNPs, lo que coincide con lo reportado previamente en población japonesa.⁶² A diferencia del estudio Japonés, en el presente estudio se realizaron estimaciones de riesgo, obteniendo OR significativas para alelos y genotipos de los polimorfismos rs1927911, rs12377632 y rs2149356. En particular, se logró demostrar que rs1927911 y rs2149356 se asocian a un mayor riesgo para GPAA. Es importante destacar que como previamente se comentó ambos polimorfismos son localizados en los intrones del gen TLR4. En contraste con este hallazgo positivo, no se encontró asociación entre el glaucoma de ángulo abierto y el SNP rs11536889, localizado en la región 3'UTR, sin embargo, otros han logrado identificar SNPs asociado a glaucoma en esta región. Concretamente, el rs7037117 se asoció con éxito para GPAA en las poblaciones japonesas y chinas.^{62,130} Adicionalmente, como hemos demostrado, los polimorfismos codificantes de TLR4; rs4986790 y rs4986791 se encuentran significativamente asociados al GPAA. Se observó que el alelo menor de ambos SNPs confiere un mayor riesgo de glaucoma de ángulo abierto, con valores de OR mayores a 3. Los polimorfismos rs4986790 y rs4986791 se localizan en el ectodominio de la proteína. Estos son polimorfismos que afectan la secuencia de aminoácidos, siendo el rs4986790 A / G el que codifica la sustitución Asp299Gly y el rs4986791 el que codifica la sustitución Thr399Ile (C / T). Ambos SNPs del gen TLR4 se encuentran en el tercer exón y afectan el dominio extracelular de la proteína, que se asocia con una respuesta menor del receptor.¹²² Ya se han explicado los mecanismos de hipo respuesta que confieren estos polimorfismos. Estructuralmente, estas mutaciones se encuentran fuera del dominio de unión al ligando del TLR4 y se ha demostrado que estas mutaciones no tienen efecto sobre la unión de LPS al receptor. En su lugar, causan cambios conformacionales locales en todo el área de la mutación que puede afectar a la eficiencia de plegamiento, la expresión en la superficie celular, la estabilidad de la proteína, así como la interacción con proteínas mensajeras.¹²³ Por ejemplo la mutación Asp299Gly (rs4986790 A / G) produce un reclutamiento deficiente de MYD88 y TRIF que

funcionan como proteínas de señalización intracelular del receptor.¹²⁴ Hoy en día, no está completamente claro cómo los polimorfismos codificantes y no codificantes del gen TLR4 están asociados a GPAA, pero la evidencia experimental apoya el papel del gen TLR4 en la fisiopatología del glaucoma.^{63,131} Por ejemplo; los lipopolisacáridos bacterianos administrados periféricamente por vía subcutánea para simular inflamación periférica subclínica crónica en un modelo animal de glaucoma, dieron lugar a la neurodegeneración mediada a través de la regulación positiva de TLR4. Además la activación de TLR4 ha sido implicada en la patogénesis de la muerte celular inducida por PIO elevada.¹²⁹

En lo relativo a los haplotipos, es relevante la observación de un haplotipo protector para GPAA, el ACGGCG (rs4986790, rs4986791, rs1927911, rs2149356, rs12377632, rs11536889) (OR=0.56; IC 95% 0.35 - 0.89, P=0.015). Este haplotipo pudiera estar asociado al pronóstico del glaucoma y por ende poseer un alto valor clínico, sin embargo nuestros resultados solo permiten teorizar este concepto por lo que son necesarios otros estudios para confirmarlo. Finalmente, es importante enfatizar que el presente estudio genético de casos y controles no fue pareado y si bien hubo diferencia significativa en la frecuencia de DM e HAS entre los grupos, no es probable que este hallazgo afecte el análisis debido a que dichas enfermedades crónicas no se relacionan con la etiología y prevalencia del glaucoma. Por otra parte; si bien se logró determinar la asociación significativa de alelos y genotipos del gen TLR4 con el GPAA, los OR calculados se acompañaron de amplios intervalos de confianza, por lo que es recomendable reproducir el estudio con muestras de mayor número, con el fin de determinar con mayor exactitud el riesgo para GPAA asociado a los SNPs del gen TLR4.

11. CONCLUSIONES

Se encontró una asociación entre los polimorfismos del gen de TLR4 con el GPAA en población del occidente de México, por lo que constituye un gen candidato para la determinación de poblaciones en riesgo. Es necesario realizar estudios posteriores donde además de ratificar la asociación entre genotipo y enfermedad,

se determine la relación del receptor TLR4 en la patogenia del glaucoma con el fin de determinar un posible blanco terapéutico.

PERSPECTIVAS EN SALUD PÚBLICA

Parte de los esfuerzos actuales de la salud pública encaminados a la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades crónicas deben estar orientados hacia la detección precoz del glaucoma.

El impacto de glaucoma, en especial el GPAA, se enfatiza por sus particulares características, la dificultad para su diagnóstico en etapas temprana, su avance crónico hacia la pérdida total e irreversible de la visión afectando aproximadamente a un 2% de la población mayor de 40 años, prevalencia que va aumentando con la edad. De igual forma un impacto aún más difícil de calcular y establecer es la pérdida de la calidad de vida de aquellos pacientes que desarrollan este padecimiento.

La posibilidad de que se realizar tamizajes genómicos, desarrollar estrategias para el tratamiento traen una implicación para las políticas públicas. Es necesario además reflexionar sobre cómo adecuar los servicios de salud a las nuevas promesas de la medicina genómica

Establecer una nueva política sanitaria en la actualidad no se puede conjeturar ontológica y deontológicamente si no se basa en evidencia científica. México, desde que entró en la era genómica, a corto y largo plazo, tendrá que diseñar políticas que tomen el conocimiento generado por estas ciencias y utilizarlo para una mejor protección de la salud. Sin embargo, esto no será posible si no existe una política que facilite la inversión y el desarrollo científico y biotecnológico, por medio de financiamiento para el desarrollo científico, acorde con sus objetivos y el tiempo necesario para su implementación.

Sesgos y limitaciones

El presente estudio cuenta con variados sesgos y limitaciones que deben ser tomados en cuenta para futuras realizaciones de investigaciones similares. En

cuanto a los casos y controles, existió carencia en la severidad para elegir a los participantes de ambos grupos debido a la variabilidad de asociaciones entre el GPAA y variables como sexo, edad, enfermedades crónicas degenerativas. Más allá de eso, errores metodológicos como el cálculo maestro son determinantes para poder sustentar de manera más eficiente la significancia estadística, por lo que se recomienda una revisión más detallada sobre los elementos que conforman un estudio de casos y controles con el fin de evitar sesgos tanto de selección como errores metodológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lee DA, Higginbotham EJ. Glaucoma and its treatment: a review. *Am J Health Syst Pharm*, 2005. 62(7): 691-9.
2. Raymond V. Molecular genetics of the glaucomas: mapping of the first five "GLC" loci. *Am J Hum Genet*, 1997. 60(2): 272-7.
3. Quigley H, Broman A. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol*, 2006; 90(3):262-7.
4. Francis B, Varma R, Vigen C, Lai M, Winarko J, Nguyen B, Azen S. Population and high-risk group screening for glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52(9): 6257-64.
5. Quigley H, Vitale S. Models of open-angle glaucoma prevalence and incidence in the United States. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997. 38(1):83-91.
6. Gilbert-Lucido M, García M, Ruiz N, Gil-Carrasco F, García A, Casab H. Estudio epidemiológico de glaucoma en población mexicana. *Rev Mex Oftalmol*; Abril-Junio 2010. 84(2):86-90.
7. Denis P, Lafuma A, Berdeaux G. Medical predictive factors of glaucoma treatment costs. *J Glaucoma*. 2004; 13(4):283-90.
8. Iskedjian M, Walker J, Vicente C, Trope G, Buys Y, Einarson T. Cost of glaucoma in Canada: analyses based on visual field and physician's assessment. *J Glaucoma*. 2003; 12(6):456-62.
9. Quigley H. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol*. 1996; 80(5):389-93.
10. Secretaría de Salud. Sospecha de Glaucoma. México: Secretaría de Salud; 2013.
11. Secretaría de Salud. Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento del Paciente Adulto con Glaucoma de Ángulo Abierto. México: Secretaría de Salud; 2010.
12. Nickells R, Howell G, Soto I, John S. Bajo presión: las respuestas celulares y moleculares durante el glaucoma, una neurodegeneración común con axonopatía. *Annu Rev Neurosci*. 2012; 35: 153-179.

13. Robert N, Tin A, Felipe A. The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma a Review. *AMA*. 2014; 311(18):1901-1911.
14. Papadakis M, Mcphee S. Diagnóstico Clínico y Tratamiento. 52ª Edición. México: McGraw-Hill; 2013. Páginas: 198-199.
15. Leite M, Sakata L, Medeiros F. La gestión de glaucoma en los países en desarrollo. *Arq Bras Oftalmol*. 2011; 74 (2): 83-84.
16. Harwerth R, Trigo J, Fredette M, Anderson D. Ligando la estructura y función en el glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2010; 29 (4): 249-271.
17. Brechtel M, González O, De la Fuente M. Glaucoma primario de ángulo abierto. *Rev Hosp*. 2001; 4 (3): 61-68.
18. Bergés S, Cortés G, Chávez D, Fromow G, García L, Garza S, et al. Lineamiento y reconocimiento para el diagnóstico y tratamiento del glaucoma. Pharmacia Corporation Editorial Intersistemas. 2001; 11 29-32.
19. Wang N, Xie X, Yang D. Orbital cerebrospinal fluid space in glaucoma: the Beijing intracranial and intraocular pressure (iCOP) study. *Ophthalmology*. 2012; 119 (10): 2065-2073.
20. Ren R, Jonas J, Tian G. Presión del líquido cefalorraquídeo en el glaucoma: Un estudio prospectivo de Oftalmología. *Ophthalmology*. 2010; 117 (2): 259-266.
21. Almasieh M, Wilson A, Morquette B, Vargas J, Di Polo A. La base molecular de la muerte de células ganglionares de la retina en el glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2012; 31 (2): 152-181.
22. Allingham R, Liu Y, Rhee D. The genetics of primary open-angle glaucoma: a review. *Exp Eye Res*, 2009. 88(4): 837-44.
23. Tielsch J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA*, 1991. 266(3): 369-74.
24. Varma R, Ying-Lai M, Francis B, Nguyen B, Deneen J, Wilson M, et al., Prevalence of open-angle glaucoma and ocular hypertension in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology*, 2004. 111(8): 1439-48.
25. Liu Y, Allingham R. Molecular genetics in glaucoma. *Exp Eye Res*, 2011. 93(4): 331-9.

26. Fingert J. Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum Mol Genet*, 1999. 8(5): 899-905.
27. Kanagavalli J. A review of genetic and structural understanding of the role of myocilin in primary open angle glaucoma. *Indian J Ophthalmol*, 2004. 52(4): 271-80.
28. Boland M, Ervin A, Friedman D, Jampel H, Hawkins B, Vollenweider D. Comparative effectiveness of treatments for open-angle glaucoma: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2013; 158 (4): 271-279.
29. Weinreb R, Kaufman P. The glaucoma research community and FDA look to the future: a report from the NEI/FDA CDER Glaucoma Clinical Trial Design and Endpoints Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52 (11): 7842 a 7851.
30. Mansouri K, Medeiros FA, Weinreb RN. Las tasas globales de la cirugía para. *Graefes Arco Clin Exp Ophthalmol*. 2013; 251 (11): 2609-2615.
31. Gedde S, Schiffman J, Feuer W, Parrish R, Heuer D, Brandt J, et al. Los resultados del tratamiento con Tubo vs trabeculectomía después de cinco años de seguimiento. *Am J Ophthalmol*. 2012; 153 (15): 789-803.
32. Ayala R, Chaudhry A, Okogbaa C, Zurakowski D. Comparación de los resultados quirúrgicos entre canaloplastia y trabeculectomía a los 12 meses de seguimiento. *Oftalmología*. 2011; 118 (12): 2427-2433.
33. Rulli E, Biagioli E, Riva I, Gambirasio G, De Simone I, Floriani I, et al. Eficacia y seguridad de la trabeculectomía vs procedimientos quirúrgicos no penetrantes: una revisión sistemática y meta-análisis. *JAMA Ophthalmol*. 2013; 131 (12): 1573-1582.
34. Organización Mundial de la Salud. Temas de Salud, Ceguera. Consultado el 7 de marzo 2016. Disponible en: <http://www.who.int/topics/blindness/es/>
35. Organización Mundial de la Salud. Centro de Prensa; Ceguera y discapacidad visual. Nota descriptiva N° 282. Agosto de 2014. Citado 7 marzo 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/es/>

36. Fernández G, Triana C, Villar V. Costos directos del glaucoma primario de ángulo abierto. *Rev Cubana Salud Pùb.* 2012; 38 (4).
37. Golden M, Melamed F. Glaucoma de ángulo abierto. Diagnóstico clínico inmediato en oftalmología. Panamá: Jaypee Brothers; 2010. 34-57.
38. Ferrer G, Díaz Á, Fernández A, Piloto D, Domínguez R, Obret M. Microscopia focal de barrido con láser y su relación con la morfología de la bula de filtración. *Rev Cubana Oftalmol.* 2012; 25.
39. Roberts C, Hiratsuka Y, Yamada M, Pezzullo L, Yates K, Takano S, et al. Economic cost of visual impairment in Japan. *Arch Ophthalmol.* 2010; 128(6):766-71.
40. Budenz D, Barton K, Whiteside-de Vos J, Schiffman J, Bandi J, Nolan W, et al; Prevalence of glaucoma in an urban West African population: the Tema Eye Survey. *JAMA Ophthalmol.* 2013; 131 (5): 651-658.
41. Díaz L. Suárez B. Caracterización epidemiológica del glaucoma primario de ángulo abierto. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos. Medisur.* 2010; 8(5).
42. Vaughan D. *Oftalmología General.* México, DF: El Manual Moderno; 2000.
43. Minwen Z, Wei W, Wenbin H, Xiulan Z. Diabetes Mellitus as a Risk Factor for Open-Angle Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2014; 9(8): 102,972.
44. Balachandran M, Shaherin B, and Sangdun C. Similar Structures but Different Roles An Updated Perspective on TLR Structures. *Front Physiol.* 2011; 2: 41.
45. Takeuchi O, Akira S. Toll-like receptors; their physiological role and signal transduction system. *Int Immunopharmacol.* 2001; 1(4):625-35.
46. Uddin M. Nuro-Gyina P, Islam M, Tesfaye D, Tholen E, Looft C. Expression dynamics of Toll-like receptors mRNA and cytokines in porcine peripheral blood mononuclear cells stimulated by bacterial lipopolysaccharide. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* Elsevier Science B.V. 2012; 147(3-4): 211-222.

47. Blasius A, Beutler B. Intracellular Toll-like receptors. *Immunity* 2010; 32: 305-315.
48. Kindt T, Goldsby R, Osbourn B. *Inmunologia de Kuby*, 6ª Edición, McGraw Hill. 2013. 62-65.
49. Lim K, Staudt L. Toll-Like Receptor Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013; 5:112,47.
50. Rintaro S, Sachiko A, Hirotaka O, Yoshinori N, Kenji F, Kensuke M, et al. MD-2, a Molecule that Confers Lipopolysaccharide Responsiveness on Toll-like Receptor 4 *The Journal of Experimental Medicine* 189(11): 1777-1782.
51. Akira S, Takeda K, Kaisho T, Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*, 2001. 2(8): 675-80.
52. Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal*. 2001 Feb; 13(2):85-94.
53. Gerold G, Zychlinsky A, de Diego J. What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections? *Semin Immunol*. 2007; 19(1):41-7.
54. Agnese D, Calvano J, Hahn S, Coyle S, Corbett S, Calvano S, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis*. 2002; 186(10):1522-5.
55. Schmitt C, Humeny A, Becker C, Brune Kand, Pahl A. Polymorphisms of TLR4: Rapid Genotyping and Reduced Response to Lipopolysaccharide of TLR4 Mutant Alleles. *Clin Chem*, 2002. 48(10): 1661-7.
56. Arbour N, Lorenz E, Schutte B, Zabner J, Kline J, Jones M et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*. 2000; 25 (2): 187-19.
57. Ameziane N, Beillat T, Verpillat P, Chollet-Martin S, Aumont MC, Seknadji P, et al. Association of the Toll-like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism with acute coronary events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23(12): 61-4.

58. Kiechl S, Lorenz E, Reindl M, Wiedermann C, Oberhollenzer F, Bonora E, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med*. 2002 Jul 18; 347(3):185-92.
59. Ouburg S, Mallant-Hent R, Crusius J, van Bodegraven A, Mulder C, Linskens R, et al. The toll-like receptor 4 (TLR4) Asp299Gly polymorphism is associated with colonic localisation of Crohn's disease without a major role for the *Saccharomyces cerevisiae* mannan-LBP-CD14-TLR4 pathway. *Gut* 54: 439-440
60. Vithana E, Khor C, Qiao C, Nongpiur M, George R, Chen L, et al. Genome-wide association analyses identify three new susceptibility loci for primary angle closure glaucoma. *Nat Genet*. 2012; 44 (10): 1142-1146.
61. Shibuya E, Meguro A, Ota M, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, et al. Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49(10):4453-7.
62. Takano Y, Shi D, Shimizu A, Funayama T, Mashima Y, Yasuda N, et al. Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms in Japanese subjects with primary open-angle, normal-tension, and exfoliation glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2012; 154(5):825-832.
63. Cheng L, Xiangjun Y, Kain A, Powell D, Kuehn M. Glaucomatous Tissue Stress and the Regulation of Immune Response through Glial Toll-like Receptor Signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010; 51(11): 5697–5707.
64. Astafurov K, Elhawy E, Ren L, Q. Dong C, Igboin C, Hyman L. Oral Microbiome Link to Neurodegeneration in Glaucoma. *PLoS One*, 2014. 9(9): 104,416.
65. Burdon K. Genome-wide association studies in the hunt for genes causing primary open-angle glaucoma: a review. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2012; 40 (4): 358- 363.
66. Thorleifsson G, Magnusson K, Sulem P, Walters G, Gudbjartsson D, Stefansson H, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*. 2007; 317(5843):1397-400.

67. Nakano M, Ikeda Y, Taniguchi T, Yagi T, Fuwaa M, Omia N, Three susceptible loci associated with primary open-angle glaucoma identified by genome-wide association study in a Japanese population. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106 (31): 12838-12842.
68. Bao J, Liu K, Yi D, Clement C, Tham, Pancy O et al. Association of Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor and Tumor Protein p53 with Primary Open-Angle Glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2010; 51 (8): 4110-4116.
69. Wiggs J, Kang J, Yaspan B, Mirel D, Laurie C, Crenshaw A, et al. Common variants near CAV1 and CAV2 are associated with primary open-angle glaucoma in Caucasians from the USA. *Hum Mol Genet.* 2011; 20 (23): 4707-4713.
70. Blue Mountains Eye Study. Genome-wide association study of intraocular pressure identifies the GLCCI1/ICA1 region as a glaucoma susceptibility locus. *Hum Mol Genet.* 2013; 22 (22): 4653-4660.
71. Nag A, Venturini C, Small K; International Glaucoma Genetics Consortium, Young TL, Viswanathan AC, Mackey DA et al. A genome-wide association study of intra-ocular pressure suggests a novel association in the gene FAM125B in the TwinsUK cohort. *Hum Mol Genet.* 2014; 23(12):3343-8.
72. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel G, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ.* 2004; 82 (11); 844-851.
73. Herbania Y, Rodriguez L, Margarita M, Palacios H, González H, Rosriguez J. Un problema de salud en el municipio Las Tunas. *Rev Cubana de Oftalmología.* 2006; 19 (1).
74. Pérez L. Glaucoma: principal problema de salud en los miembros de la Asociación Nacional del Ciego en Santiago de Cuba. *MEDISAN* 2009; 13(2).
75. Furtado J. Causes of Blindness and Visual Impairment in Latin America. *Surv Ophthalmol.* 2012; 57: 149-177.

76. Francis V, Varma R. Intraocular pressure, central corneal thickness, and prevalence of open-angle glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol.* 2008; 146: 741-746.
77. Sakata K, Sakata L. Prevalence of glaucoma in a South Brazilian Population: Projeto Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48: 4974-4979.
78. Velasco-Gallegos G, Noriega M. Prevalencia del glaucoma en población definida en Monterrey, Nuevo León, México. *Rev Mex Oftalmol.* 2002; 76: 24-29.
79. Polack S, López. Rapid assessment of avoidable blindness and diabetic retinopathy in Chiapas, Mexico. *Ophthalmology.* 2012; 119: 1033-1040.
80. Paczka J, Limburg H. Metodología rápida para establecer la situación de salud ocular en una población. La experiencia mexicana con RACSS. *Rev Mex Oftalmol.* 2002; 76: 130.
81. Céspedes V. Causas de discapacidad visual en campaña de prevención de ceguera, fundación Boliviana de Oftalmología 2012. *Rev Med Cient Luz Vida.* 2012; 3: 27-30.
82. Santos A, Paczka J. Principales causas de ceguera en México. *Invest Salud.* 1999; 1: 1-9.
83. Aguilera K, Paczka J. Búsqueda clínica de incidencia y factores asociados a la ceguera en la zona metropolitana de Guadalajara. *Arch Ciencia.* 2013; 5:157.
84. Organización Mundial de la Salud. Salud Ocular Universal Un plan de acción mundial para 2014-2019. 2013.
85. Varma R, Wang D, Wu C et al. Four-Year incidence of open-angle glaucoma and ocular hypertension: The Los Angeles Latinos Eye Study. *Am J Ophthalmol.* 2012; 154: 315-325.
86. Gálvez A, Tirzo A, Mundo E, Domínguez F, Barojas E. Determinación de la frecuencia del glaucoma primario de ángulo abierto en pacientes mayores de 40 años en una institución de tercer nivel de la Ciudad de México. *Investigación en Discapacidad.* 2015; (2): 65-70.

87. Lam D, Gálvez G, Hernández R. Repercusión económica del tratamiento de la leucemia promielocítica. Experiencia en el Instituto de hematología. La Habana. 2001-2006. INFODIR. 2010; 6 (10).
88. Gálvez A. Guía metodológica para la evaluación económica en salud: Cuba, 2003. Rev Cubana Salud Pública. 2004 Mar; 30(1).
89. Koleva D, Motterlini I, Schiavone M, Garattini L. Medical costs of glaucoma and ocular hypertension in Italian referral centres: a prospective study. *Ophthalmologica*. 2007; 221:340-7.
90. Lee P, Walt J, Doyle J, Kotak S, Evans S, Budenz D, et al. A multicenter, retrospective pilot study of resource. Use and costs associated with severity of disease in glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2006; 124:12-9.
91. Traverso C, Walt J, Kelly S, Hommer A, Bron A, Denis P, et al. Direct costs of glaucoma and severity of the disease: a multinational long term study of resource utilisation in Europe. *Br J Ophthalmol*. 2005; 9(10):1245-9.
92. Bramley T, Peeples P, Walt JG, Juhasz M, Hansen JE. Impact of vision loss on costs and outcomes in medicare beneficiaries with glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2008; 126(6):849-56.
93. Rein D, Ping Zhang, Wirth K, Lee P, Hoerger T, et al. The Economic Burden of Major Adult Visual Disorders in the United States. *Arch Ophthalmol*. 2006; 124:1754-60.
94. Berkman L, Kawachi I. *Social Epidemiology*. Oxford, England: Oxford University Press, 2000
95. Segura J. *Epidemiología de campo y epidemiología social*. Escuela Nacional de Sanidad, España. *Gac Sanit*. 2006; 20(2):153-8
96. Organization PAH. *Salud OPdI. Funciones Esenciales de Salud Pública (FESP)*. [Online]; 2014 [cited 2014 mayo 30. Available from: <http://www.paho.org/hq/>.
97. Santos H. Los determinantes sociales, las desigualdades en salud y las políticas, como temas de investigación. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2011; 37 (2).

98. Organización Mundial de la Salud. Determinantes Sociales de la Enfermedad. Disponible en: http://www.who.int/social_determinants/es/. Consultado el 10 abril 2016.
99. Booth A, Churchill A, Ranwar R, Menage R, Alexander Markham. The genetics of primary open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol*, 1997. 81(5): 409-14.
100. Sheffield V, Stone E, Alward W, Drack A, Johnson A, Streb L, Nichols B. Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nat Genet*. 1993;4(1):47-50.
101. Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, Drack AV, Johnson AT, Streb LM, et al. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science*, 1997. 275(5300): 668-70.
102. Monemi, S. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Hum Mol Genet*, 2005. 14(6): 725-33.
103. Monemi S, Spaeth G, DaSilva A, Popinchalk S, Ilitchev E, Liebmann J, Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science*, 2002. 295(5557): 1077-9.
104. Fuse N. Genetic bases for glaucoma. *Tohoku J Exp Med*, 2010. 221(1): 1-10.
105. Thorleifsson G, Walters G, Hewitt A, Masson G, Helgason A, DeWan A, et al. Variantes comunes cerca de CAV1 y CAV2 se relacionan con glaucoma primario de ángulo abierto. *Nat Genet*. 2010; 42 (10): 906-909.
106. Wiggs J, Yaspan B, Hauser M, Kang J, Allingham R, Olson L, et al. Las variantes comunes en 9p21 y 8q22 se asocian con una mayor susceptibilidad a la degeneración del nervio óptico en el glaucoma. *PLoS Genet*. 2012; 8 (4).
107. Oliva P, Zaga J, Arellano A, Millet F, Rosenthal J, Isasi R. Humgen en español: una herramienta legislativa y política en genómica humana y salud pública. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2011, 29 (6).
108. Khoury M, Bowen S, Bradley L, Coates R, Dowling N, Gwinn M, et al. A decade of public health genomics in the United States: Centers for disease

- control and prevention 1997-2007. *Public Health Genomics*. 2009; 12(1):20-9.
109. Oliva P, Jafif M, Akkad I, Waliszewski E. Equidad, salud pública y genómica: el reto jurídico, social y biotecnológico en México. Departamento de estudios jurídicos, éticos y sociales. Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). *Gaceta Médica de México*. 2013; 149:562.
110. Oliva P, Garcia J, Zaga J, Millet J, Rosenthal J, Saruwatari G. HumGen en Español: Descripción comparativa del marco normativo de genética humana en América Latina. Departamento de estudios jurídicos, éticos y sociales, Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN). *Gaceta Médica de México*. 2013; 149:168-74.
111. Chan I, Ginsburg G. Personalized Medicine: Progress and Promise. *Genomics Hum Genet*. 2011; 12:217-44.
112. Hernández J, Serrano O. La medicina personalizada, la revolución genómica y el Sistema Nacional de Salud. *Rev Cubana Salud Pública*; 2014; 40 (4).
113. Lesk A. *Introduction to Bioinformatics*. 4ª ed. Londres: Oxford University; 2013.
114. Pang A, MacDonald J, Pinto D, Wei J, Rafiq M, Conrad D, et al. Towards a comprehensive structural variation map of an individual human genome. *Genome Biol*. 2010; 11(5).
115. Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNP Stats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006 22: 1928-1929.
116. Leite M, Sakata L, Medeiros F. La gestión de glaucoma en los países en desarrollo. *Arq Bras Oftalmol*. 2011; 74 (2): 83-84.
117. Kutikhin A. Impact of Toll-like receptor 4 polymorphisms on risk of cancer. *Hum Immunol*, 2011. 72(2): 193-206.
118. Jann, O. Comparative genomics of Toll-like receptor signalling in five species. *BMC Genomics*, 2009. 10: 216.
119. Vaure, C, Liu Y. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality in different animal species. *Front Immunol*, 2014. 5: 316.

120. Qureshi, S. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). *J Exp Med*, 1999. 189(4): 615-25.
121. Ferwerda, B. Functional consequences of toll-like receptor 4 polymorphisms. *Mol Med*, 2008. 14(5-6): 346-52.
122. Kuuliala, K. Polymorphism at position +896 of the toll-like receptor 4 gene interferes with rapid response to treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2006. 65(9): 1241-3.
123. Radstake, T. The Toll-like receptor 4 Asp299Gly functional variant is associated with decreased rheumatoid arthritis disease susceptibility but does not influence disease severity and/or outcome. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(3): p. 999-1001.
124. Werner M. TLR4 gene variants modify endotoxin effects on asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2003. 112(2): 323-30.
125. Sellers, R. TLR4 Asp299Gly polymorphism may be protective against chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 2015.
126. Carvalho A. Polymorphisms in toll-like receptor genes and susceptibility to pulmonary aspergillosis. *J Infect Dis*, 2008. 197(4): 618-21.
127. Schurz H. TLR1, 2, 4, 6 and 9 Variants Associated with Tuberculosis Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 2015. 10(10): 139,711.
128. Kurt H. Determination of the Relationship Between rs4986790 and rs4986791 Variants of TLR4 Gene and Lung Cancer. *Inflammation*, 2015.
129. Pohjanen V. Toll-Like Receptor 4 Wild Type Homozygosity of Polymorphisms +896 and +1196 Is Associated with High Gastrin Serum Levels and Peptic Ulcer Risk. *PLoS One*, 2015. 10(7): 131,553.
130. Chen L, Pancy O, Fan A, Zhang M, Tham C, Chiang S, et.al., SNP rs1533428 at 2p16.3 as a marker for late-onset primary open-angle glaucoma *Molecular Vision* 2012; 18:1629-1639.
131. Chi W. Caspase-8 promotes NLRP1/NLRP3 inflammasome activation and IL-1beta production in acute glaucoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014. 111(30): 11181-6.

ANEXOS

Anexo 1

Consideraciones éticas

En todos los casos se obtuvo un consentimiento informado. El estudio, clasificado como de riesgo mínimo por la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, obedece lo relativo a la declaración de Helsinki revisada en la 52va Asamblea Médica Mundial en Edimburgo, Escocia en Octubre del 2000 y sus notas aclaratorias de Washington 2002, Tokio 2004 y Seúl 2008, así como también a la Reglamentación en materia de Investigación para la Salud vigente en México, y a los Códigos y Normas Internacionales vigentes para las Buenas Prácticas en la Investigación Clínica.

En consideración con los lineamientos anteriores se solicitará participación mediante carta de consentimiento informado por escrito a fin de que los sujetos participantes puedan tomar su decisión libre e informada sobre la participación en el estudio. La carta se obtendrá en el momento en que se identifique que el paciente cumple con los criterios de inclusión del estudio y posterior a haber explicado de manera clara el objetivo, los alcances y el riesgo/beneficio del estudio. La carta será obtenida por el investigador principal, Beatriz Alvarado Castillo. El documento se firmará en duplicado por el participante y por el investigador principal del centro con dos testigos ajenos al equipo de investigación y de forma preferente familiares o amigos del participante.

Conforme a las guías de buena práctica médica, toda información que se obtenga de este proyecto preservará la confidencialidad de los participantes, identificándolos únicamente mediante código compuesto por las iniciales y números consecutivos en la base de datos, además sus nombres serán omitidos de toda publicación o presentación que se realizara. Los expedientes y resultados de laboratorio estarán disponibles solo para los investigadores principales y con las restricciones de ley para el participante. Todos los procedimientos para el interrogatorio, examen oftalmológico e integración de la historia clínica correspondiente serán realizados

mediante métodos universalmente aceptados y de conformidad con la Ley General de Salud, en su Reglamento en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica. Los procedimientos de seguridad para los pacientes consistirán en la vigilancia y monitoreo de la presentación de cualquier clase de evento adverso.

Se mantendrá discreción en el manejo de la información y el anonimato de los pacientes. En los formularios de registro de caso no se consignará nombre ni datos personales. Si se publican los resultados de este estudio la identidad del paciente permanecerá secreta. Los pacientes serán seleccionados de aquellos que acudan a la consulta de oftalmología del Centro Médico de Occidente y que cumplan con los criterios de selección. El protocolo será sometido a la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS.

ANEXOS
Anexo 1: Consentimiento Informado

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
(ADULTOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:

Asociación de los polimorfismos del gen del receptor tipo Toll 4 con Glaucoma Primario de Angulo Abierto en población del occidente de México.

Lugar y fecha: Tepic, Nayarit a _____ de _____ 20____

Número de registro: _____

Investigador responsable:

Losé Navarro Partida

Oftalmología IMSS Nayarit

Introducción

Por medio de esta forma de consentimiento informado se le está invitando a participar en un estudio de investigación. Este documento puede contener palabras o términos que usted no comprenda. Por favor pida al médico encargado del estudio y de su entrevista (Dra. Beatriz Alvarado Castillo) que le explique cualquier palabra, término o situación que no comprenda o le cree duda. No firme esta forma de consentimiento informado hasta que todas sus dudas le sean aclaradas de forma satisfactoria y se encuentre convencido de querer participar en el estudio.

Propósito y descripción del estudio

Este es una investigación de riesgo mínimo, que a través de una evaluación médica oftalmológica y la toma de una muestra sanguínea, pretende identificar factores hereditarios asociados al riesgo de presentar Glaucoma.

Procedimiento

Si usted decide colaborar en el proyecto, contestará un cuestionario que revelará datos sobre su historia médica y se llevará a cabo una revisión oftalmológica clínica así como también toma de muestra sanguínea para su análisis. La sangre obtenida será utilizada para extraer componentes de ella, entre estos el material donde se guarda la información hereditaria, los cuales serán utilizados exclusivamente para el propósito de esta investigación el cual es identificar factores hereditarios asociados al riesgo de presentar Glaucoma.

Si usted decide participar en el proyecto, se realizará una evaluación clínica en el Centro Médico Nacional de Occidente en el turno vespertino en el servicio de segmento anterior. Durante la primera visita clínica se hará una revisión ocular completa, incluyendo revisión en lámpara de hendidura, aplicación de medicamento anestésico en gotas para tomar la presión intraocular, así como la instilación en gotas de medicamentos que dilatarán la pupila con el fin de valorar el nervio óptico y la retina. Posteriormente, en una segunda visita, se realizará toma de muestra sanguínea mediante punción venosa, con el fin de obtener glóbulos blancos a partir de los cuales se aislara el material genético para su análisis.

Posibles riesgos y molestias

A pesar de que no se han reportado efectos adversos con la realización de las pruebas diagnósticas oculares que se llevaran a cabo durante la evaluación se me ha informado que puedo experimentar molestias pasajeras tales como lagrimeo, enrojecimiento y comezón. Además se me ha informado que existen riesgos mínimos asociados a la punción venosa, como lo son: sangrado, desmayo o sensación de mareo, hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel), infección (un riesgo leve en cualquier momento que se presente ruptura de la piel) y la necesidad en ocasiones de realizar punciones múltiples para localizar las venas.

Tratamiento médico en caso de eventos adversos

Si usted llegara a sufrir alguna lesión o enfermedad como resultado de alguno de los tratamientos administrados en este estudio o de alguno de los procedimientos de estudio se le brindará la atención médica necesaria en el Hospital de Especialidades del Centro Médico de Occidente.

Beneficios de su participación en el estudio

No obtendrá beneficio personal económico o de ninguna otra índole por su participación en la investigación. Los datos obtenidos a partir del estudio contribuirán a incrementar el conocimiento existente sobre el Glaucoma.

Obtención de información adicional

Se le anima a que usted haga preguntas en cualquier momento durante el desarrollo del estudio. En caso de que usted tenga molestias o tenga otras preguntas sobre el estudio o de sus derechos como paciente participante en una investigación, por favor póngase en contacto con la Dra. Beatriz Alvarado Castillo cuyos datos se encuentra al inicio de este consentimiento.

Bases de la participación

Su participación en este estudio es voluntaria. Si decide no ingresar al estudio no se afectará la calidad de atención que recibe. Si usted decide participar, puede salir del estudio en cualquier momento sin perder el derecho a la atención médica oportuna.

El médico encargado del estudio también puede suspender su participación en el mismo en cualquier momento, sin su consentimiento, por cualquiera de las razones siguientes: 1) si no sigue las instrucciones de participación en el estudio; 2) si se descubre en una fecha posterior algún elemento que lo haga no cumplir con los requisitos para el estudio y 3) si se cancela el estudio.

Confidencialidad y revisión de expedientes

Usted tiene derecho a su privacidad y toda la información recopilada durante este estudio es confidencial en conformidad con los lineamientos de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos. El Comité de Ética de la institución patrocinadora, el personal médico encargado de su atención y desarrollo del estudio y las autoridades de salud pueden examinar su expediente médico con relación a este estudio. Los formularios de registro de caso y otros registros médicos del estudio, en los cuales no se consigna su nombre ni datos personales, serán transmitidos a otros investigadores para el análisis de los resultados del estudio. Si se publican los resultados de este estudio, su identidad permanecerá secreta.

Declaración de consentimiento de participación

El investigador me ha informado de manera verbal y escrita acerca de las causas, los signos y síntomas, las complicaciones, así como las modalidades de diagnóstico y tratamiento del Glaucoma Primario de Ángulo Abierto, Se me ha explicado que este es un estudio de riesgo mínimo, que pretende encontrar factores de riesgo asociados a la presencia del Glaucoma. Entiendo que no recibiré beneficio personal alguno por mi participación en el estudio.

He comprendido el procedimiento de revisión ocular y toma de muestra sanguínea necesarios para alcanzar los propósitos de esta investigación. Por lo antes mencionado, declaro libremente que acepto participar en el estudio "Asociación de los polimorfismos del gen del receptor tipo Toll 4 con Glaucoma Primario de Angulo Abierto en población del occidente de México". Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento en que yo así lo desee.

También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada. Asimismo, los investigadores serán libres de cualquier responsabilidad sobre mi salud ocasionada por cualquier otra causa ajena a la presente investigación.

PARTICIPANTE

Firma del participante: _____ Fecha de firma: _____

Nombre del participante: _____

TESTIGO 1

Firma: _____ Fecha: _____

Nombre: _____

Domicilio y teléfono: _____

Relación con el participante: _____

TESTIGO 2

Firma: _____ Fecha: _____

Nombre: _____

Domicilio y teléfono: _____

Relación con el participante: _____

Anexo 2: Historia Clínica

NOMBRE _____	FECHA _____	EDAD _____	SEXO _____
CLAVE _____	DOMICILIO _____	TEL: _____	

ANTECEDENTES HEREDITARIOS

Diabetes
 Hipertensión
 Cáncer
 Cardiopatías
 GLAUCOMA (especificar tipo): _____

ANTECEDENTES PERSONALES

Ocupación: _____

Alergias: _____
 Enfermedades autoinmunitarias: _____

S. Sjögren
 Diabetes
 Hipertensión
 Cáncer
 Cardiopatías
 Cirugías (especifique): _____

Tabaquismo _____
 Alcoholismo _____
 Medicación sistémica/Terapia de reemplazo

Nombre Genérico	Dosis diaria	Tiempo de uso

Otra enfermedad: _____

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

Menarca: _____

Menopausia (FUM): _____

G: _____ P: _____ A: _____ C: _____

Historia Patrón menstrual: _____
 Historia de Diabetes Gestacional
 Historia de productos macrosómicos
 Historia de ojo seco durante las gestaciones
 Cirugía ginecológica
 Ooforectomía
 Histerectomía
 Otra _____
 Reemplazo hormonal (Fecha de inicio y última dosis): _____

ANTECEDENTES OCULARES

	OD	OI
Glaucoma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Trauma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cirugía Ocular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Proced láser	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Uso de colirio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lentes de contacto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Especificar: _____

	OD	OI
Betabloq		
Inhib Anhid		
Agon alfa		
Analog prost		

PERIMETRIA ESTÁTICA AUTOMATIZADA BLANCO-BLANCO (+/- A GLAUCOMA)

	OD	OI
MD		
PSD		
CPSD		

EXPLORACIÓN OCULAR

	OD	OI
A) Agudeza Visual lejana (Snellen)		
B) Segmento Ant		
C) Presión intraocular		
D) Gonioscopia (Shaffer)		
D) Relación copa/disco (horizontal, vertical)		

C) Segmento anterior



Conjuntiva: _____
 Iris: _____
 Cristalino: _____

C) Papila óptica



Anexo3: Protocol #2–30 Minute DNA Extracción de muestras de sangre

Introducción. El Kit Easy- DNA™ le permite aislar con rapidez y facilidad ADN genómico de alto peso molecular de una variedad de tipos de muestras y tamaños. El siguiente procedimiento le permitirá aislar el ADN genómico de muestras de sangre en menos de 30 minutos. El ADN aislado estará listo para el PCR o el análisis de RFLP.

Antes de empezar

- Necesitará tubos de microcentrífuga de 2.0 ml para este protocolo
- Equilibrar el bloque de calor o baño de agua a 65 ° C
- Cloroformo. (FRIO)
- Etanol al 100% (FRIO)
- Solución A
- Solución B

Aislamiento de ADN

1. Pipetear 350 microlitros de sangre en cada tubo de microcentrífuga. Las muestras de sangre deben mezclarse para formar una solución homogénea.
2. Añadir 500 microlitros de solución A al tubo. Mezclar por inversión varias veces.
3. Incubar a 65 ° C durante 6 minutos.
4. Quitar la muestra del bloque de calor y mezclar por inversión.
5. Añadir 900 microlitros de cloroformo y agitar vigorosamente en vortex. Asegúrese de que la muestra se mezcle completamente. La mezcla se ha mezclado completamente cuando la porción líquida de la muestra fluye libremente y la hemoglobina se parece a pequeñas partículas cubiertas con chocolate.
6. Añadir 200 microlitros de solución B y agitar brevemente hasta que la muestra sea uniformemente viscosa (aquí se utiliza el vortex poco).
7. Centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 10 minutos a temperatura ambiente (4°C).
8. Pipetear la fase clara acuosa a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 ml.

La precipitación de El ADN genómico

1. Añadir 800 microlitros de etanol al 100% a temperatura ambiente. Mezclar por inversión hasta que se forme precipitado. Un precipitado se ve generalmente dentro de 30 a 60 segundos. Si el precipitado no se ve, permiten que los tubos se incuben a temperatura ambiente durante 10 minutos. Almacenar a 20°C por 48 hrs
2. En caso de que sea necesario agregar 20 micro litros de glicógeno antes del etanol al 100%.
3. Centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 6 minutos a temperatura ambiente. A menos 4°C.
4. Decantar el sobrenadante y añadir 1 ml de etanol 70 % A temperatura ambiente. Centrifugar
5. Centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 2 minutos a 4°C.
6. Decantar el sobrenadante. Centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 1 minuto a 4 °C.
7. Eliminar el etanol residual con una pipeta e invertir los tubos para secar.
8. Añadir 100 mcl o 40 mcl de Bufer T dependiendo de las características de la muestra y el volumen. Mezclar con pipeta. Centrifugar de forma rápida a menos 4° C por 1 minuto.
9. Incubar a 65 ° C durante 8 minutos.
10. Ejecutar ADN genómico en un gel de agarosa para comprobar el tamaño y el rendimiento.

MATERIALES REQUERIDOS

Equipo

- Microcentrifugador 4°C
- Placa para incubar termoblock a 65°C
- Pipeta 1ml
- Centrifugador a temp. Ambiente
- Pipeta
- Vortex

- Consumibles
- Tubos para secar
- Puntas de 1000 ml
- Puntas de 200 ml

Soluciones

- Etanol 70%
- Etanol 100%
- Agua libre de nucleasa
- Gel de agarosa

Anexo 4: Cuantificación del DNA genómico y evaluación de su calidad

Se determinará la cantidad y calidad del DNA por espectrofotometría (lectura a 260 y 280 nm) y electroforesis en geles de agarosa al 0.8%.

CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DEL DNA TOTAL

Los ácidos nucleídos se pueden cuantificar por medio de espectrofotometría con luz ultravioleta a 260nm. Una unidad de absorbancia a 260nm se utiliza para el DNA de doble cadena a 50 µg/ml. Esta medición se basa en que la concentración de la muestra es directamente proporcional a la absorbancia en rangos de 0.15 a 1.0 unidades de absorbancia. Debido a que otros compuestos absorben la luz a 280nm, una relación de las densidades ópticas (DO) 260nm/280nm < 1.8 indica una contaminación con proteínas y una DO ≥ a 2 indica pureza (0% de proteínas y 100% de DNA), tomándose esta relación como un parámetro de calidad. La absorbancia se mide en una celda de cuarzo 1cm cúbico en agua destilada. La fórmula para estimar la concentración de DNA es:

$$\text{DNA } \mu\text{g/mL} = (\text{DO}) (\text{FD}) (50)$$

1000 DO: Densidad óptica.

FD: Factor de dilución. 50: Constante que expresa el coeficiente de extinción molar de 50 µg/mL de DNA que es la máxima absorbancia de 1.0 unidad de DO a 260 nm.

ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA PARA DETERMINAR LA INTEGRIDAD DEL DNA

Para determinar dicha integridad, se prepara un gel de agarosa al 0.8%. El procedimiento es el siguiente:

1. Preparar agarosa al 0.8% en solución amortiguadora TBE 0.5% (trisma base 0.002M, ácido bórico 0.09M y Na₂ EDTA 0.09M a pH 8.0), calentar a ebullición hasta observar una solución cristalina.

2. Dejar enfriar la solución a 60 grados centígrados y vaciar el contenido en un molde evitando la formación de burbujas. El gel debe tener entre 3 y 5 mm de grosor. Posteriormente colocar el peine para la formación de ranuras.
3. Dejar reposar 30 a 40 minutos a temperatura ambiente hasta que la agarosa gelifique completamente.
4. Remover cuidadosamente el peine y colocar el gel en la cámara de electroforesis.
5. Agregar solución amortiguadora TBE 0.5X cubriendo al gel en su totalidad.
6. Mezclar 2 μ l de cada una de las muestras de ADN problema con 0.4 μ l de solución amortiguadora de carga conocida como jugo azul (azul bromofenol 25%, xilencianol 25% y glicerol 30%), cargar cada una de las soluciones en las ranuras del minigel.
7. Realizar el corrimiento electroforético a 60V/1.5 hrs o hasta que el colorante bromofenol ha migrado 2 a 4 cm del punto de aplicación.
8. Teñir el gel con una solución de bromuro de etidio (0.5mg/ml), por inmersión durante 5 a 10 minutos. Posteriormente, enjuagar el gel con agua destilada para eliminar el exceso de bromuro de etidio, teniendo cuidado en esta etapa ya que el bromuro de etidio es carcinógeno.
9. Fotografiar el gel con un transiluminador de UV de longitud de onda corta para la evaluación del estado físico y pureza del DNA.

Anexo5: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR)

Este procedimiento permite la amplificación de un fragmento específico de DNA a millones de copias idénticas. El número de copias sintetizadas es monitoreado por medio de fluorescencia, la cual es proporcional al producto de PCR generado, dicha amplificación ocurre en tiempo real.

Para la realización de PCR en tiempo real, son utilizados los mismos elementos de la PCR convencional, es decir: muestra de DNA, desoxirribonucleótidos (dNTPs), buffer de reacción para la enzima Taq polimerasa, oligonucleótidos de cadena sencilla (primers) que proporcionan un hidroxilo libre en la posición 3' para el inicio de la síntesis de la cadena de DNA por medio de la enzima Taq polimerasa.

Los oligonucleótidos se diseñan para flanquear las hebras de DNA, el oligonucleótido sentido se une a la cadena 5' -> 3' y el oligonucleótido antisentido a la cadena complementaria 3' -> 5'. La reacción de amplificación consta de 30 a 45 ciclos, en el cual ocurren los procesos de desnaturalización (de la doble cadena de DNA a temperaturas de 92 a 98 grados centígrados por 30 a 90 segundos), alineación (la tempera de alineación depende del contenido de guanina/citosina, del pH del medio y concentración de sales), extensión (la realiza una DNA polimerasa incorporando los dNTPs a partir de los primers. Los sistemas de detección de fluorescencia utilizados en la PCR en tiempo real son de dos tipos: Agentes intercalares (SYBR Green) y sondas: de hibridación y de hidrólisis (FRET, Taqman).

Las sondas Taq Man contienen 2 tipos de fluorocromos: un fluorocromo donador o reportero en el extremo 5' que emite fluorescencia cuando una copia de DNA es generada y un aceptor en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia. Cuando la DNA polimerasa avanza hasta la sonda, ésta la hidroliza con actividad 5' -> 3' exonucleasa, liberando un fluorocromo reportero y emitiendo una señal de fluorescencia detectada por el equipo.

La discriminación alélica en tiempo real mediante el uso de sondas Taqman es una técnica muy eficaz y precisa. Gracias a la actividad 5' exonucleasa de la Taq polimerasa y las dos sondas Taqman que son complementarias a cada uno de los

alelos de SNPs que están marcadas con diferente fluorocromo, es posible el interrogatorio del polimorfismo.

Mediante la detección de la fluorescencia emitida por las sondas cuando son escindidas durante la PCR podemos conocer cual es el genotipo del polimorfismo.

Los fluorocromos reporteros más utilizados son FAM (6-carboxifluoresceína), TET (tetracloro-6-carboxifluoresceína), JOE (2,7-dimetoxi-4,5dicloro-6-carboxifluoresceína). Los fluorocromos aceptores o apagadores son TAMRA (Tetramil-6-Carboxirhodamina), DABCYL (4-dimetilaminofenilazo) benzoico, VIC.

El equipo que se utilizo en este proyecto es Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science), sondas Taq Man- MGB del inglés minor groove binder (enlazador del surco menor) y el kit Taq Man Universal Master Mix que contiene dNTPs, dUTP, AmpliTaq Gold DNA polimerasa, AmpErase uracil-Nglicosilasa (UNG) y el buffer de PCR.