



Universidad de Valladolid



Máster en Enfermería Oftalmológica

Universidad de Valladolid

Trabajo de Fin de Máster

Meta-análisis de la influencia de la presencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* en la predisposición a sufrir glaucoma

Autora:

NOELIA CALERO DUEÑAS

Tutor:

DR. RICARDO USATEGUI MARTÍN

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ricardo Usategui Martín del Instituto Universitario de Oftalmología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid por su ayuda y apoyo durante este curso académico.

Al personal docente del IOBA por transmitirme tantos conocimientos.

A mi madre por todo el apoyo que me da en la distancia.

A mi hermana por estar ahí siempre que la necesito.

A toda mi familia, especialmente a mis abuelos que tanto me han enseñado durante toda mi vida.

ÍNDICES

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

1. RESUMEN	3
2. ABSTRACT	4
3. ABREVIATURAS	5
4. INTRODUCCIÓN	7
Glaucoma. Prevalencia, fisiopatología, factores de riesgo, clasificación, y tratamiento	7
Genética del glaucoma	11
Papel del gen <i>CYP1B1</i> en el glaucoma.....	11
5. JUSTIFICACIÓN	13
6. HIPÓTESIS	15
7. PICOT	15
8. OBJETIVOS	15
9. MATERIAL Y MÉTODOS	17
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	17
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	17
DISEÑO	17
ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA	17
ESTRATEGIA DE SELECCIÓN.....	18
OBTENCIÓN DE DATOS	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
10. RESULTADOS	21
11. DISCUSIÓN	29
12. CONCLUSIÓN	35
13. BIBLIOGRAFÍA	37

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Excavación de NO en fondo de ojo (FO).....	7
FIGURA 2. Sistema de drenaje del humor acuoso	8
FIGURA 3. Estrías de Haab	10
FIGURA 4. Localización cromosómica del gen <i>CYP1B1</i>	12
FIGURA 5. Diagrama de flujo de los trabajos revisados en nuestro estudio e incluidos en el meta-análisis.....	21
FIGURA 6. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen <i>CYP1B1</i> entre el total de pacientes con glaucoma y el grupo de individuos sanos.	25
FIGURA 7. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen <i>CYP1B1</i> entre los pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto y el grupo control.....	26
FIGURA 8. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen <i>CYP1B1</i> entre los pacientes con glaucoma primario congénito y el grupo control.	27
FIGURA 9. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen <i>CYP1B1</i> entre de los pacientes jóvenes con GPAA y los pacientes adultos con GPAA.....	27
FIGURA 10. Diagramas de Begger	28

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Características de los trabajos incluidos en el meta-análisis.	23
TABLA 2. Variantes genéticas descritas en el gen <i>CYP1B1</i> en pacientes con glaucoma.....	24

RESUMEN

El glaucoma es una patología muy heterogénea donde el condicionamiento genético es crucial. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar el papel de las mutaciones del gen *CYP1B1* en el riesgo de sufrir glaucoma y diferentes variantes clínicas de glaucoma. Para ello se realizó una búsqueda sistemática para identificar todos los estudios de casos y controles que analizaban la influencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* en el desarrollo del glaucoma. Posteriormente se realizó un meta-análisis de los estudios seleccionados. Se identificaron 23 artículos que relacionaran el gen *CYP1B1* con los diferentes tipos de glaucoma y que cumplieran los criterios de inclusión. Nuestros resultados mostraron que ser portador de mutación en el gen *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de sufrir glaucoma, glaucoma primario congénito (GPC) y glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA). Nuestro trabajo sugiere que tener mutado el gen *CYP1B1* es un factor de riesgo para el desarrollo de glaucoma reforzándose la hipótesis de que alteraciones en el gen *CYP1B1* están implicadas en la fisiopatología del glaucoma.

Palabras clave: glaucoma, *CYP1B1*, mutaciones, variantes, polimorfismos

ABSTRACT

Glaucoma is a very heterogeneous pathology where genetic factors are crucial. The objective of our work was to study the role of *CYP1B1* gene mutations in the risk of suffering from glaucoma and different clinical variants of glaucoma. For this, a systematic search was carried out to identify all the case-control studies that analyzed the influence of mutations in the *CYP1B1* gene in the development of glaucoma. Subsequently, a meta-analysis of the selected studies was performed. Were identified 23 articles that related the *CYP1B1* gene with the different types of glaucoma and that met the inclusion criteria. Our results showed that being a mutation carrier in the *CYP1B1* gene was associated with an increased risk of suffering from glaucoma, congenital primary glaucoma (CGP) and primary open angle glaucoma (POAG). Our work suggest that having the *CYP1B1* gene mutated is a risk factor for the development of glaucoma, reinforcing the hypothesis that alterations in the *CYP1B1* gene are implicated in the pathophysiology of glaucoma.

Key words: glaucoma, *CYP1B1*, mutations, variants, polymorphisms

ABREVIATURAS

DNA: ácido desoxirribonucleico

EV: endovenoso

GPAA: glaucoma primario de ángulo abierto

GPAC: glaucoma primario de ángulo cerrado

GPC: glaucoma primario congénito

GTN: glaucoma tensión normal

CV: campos visuales

CYP1B1: Cytochrome P450 Family 1 Subfamily B Member 1

Et al: y otros

Fig: figura

FO: fondo de ojo

HTO: hipertensión ocular

IC: Intervalo de Confianza

IOBA: Instituto universitario de Oftalmobiología Aplicada

min: minuto

ml: mililitro

mmHg: milímetros de mercurio

MYOC: myocilin

NE: no especificado

NO: nervio óptico

OR: odd ratio

PICOT: Paciente (P), Intervención (I), Comparación (C),
Resultados/Outcomes (O), Tiempo (T)

PIO: presión intraocular

PXG: glaucoma pseudoexfoliativo

RevMan: Review Manager

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

UVa: Universidad de Valladolid

INTRODUCCIÓN

Glaucoma. Prevalencia, fisiopatología, factores de riesgo, clasificación, y tratamiento

El glaucoma es una neuropatía óptica progresiva que constituye la primera causa de ceguera irreversible en todo el mundo, definiéndose como la muerte apoptótica de las células ganglionares de la retina y de sus axones, provocando así, excavación del nervio óptico (NO) (Fig. 1) y defectos característicos de los campos visuales (CV) (1).

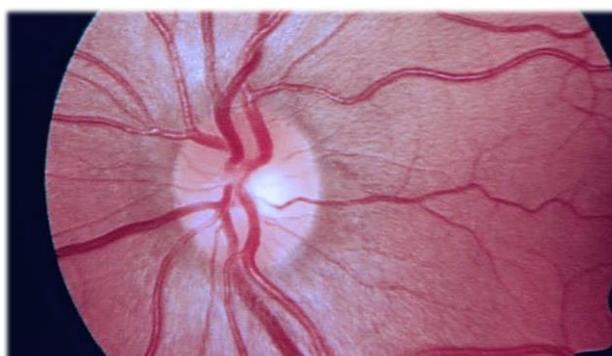


Figura 1. Excavación de NO en fondo de ojo (FO) (*“Modificada del blog Oftalvist”*)

Actualmente la prevalencia del glaucoma refleja una importante carga en los próximos años a nivel mundial. Existen aproximadamente 64.3 millones de personas afectadas y se prevé que sean 111.8 millones en 2040. África es donde más se experimentará este aumento de hasta 130,8% (10.9 millones), mientras que en Europa, América del norte y Oceanía sólo habrá un ligero aumento (2).

La presión intraocular (PIO) es necesaria para no colapsar el ojo y para una correcta perfusión de los tejidos oculares. Se mantiene estable mediante la regulación intrínseca del humor acuoso. El humor acuoso es un líquido transparente que permite funcionar como elemento óptico y como nutrición de la córnea y el cristalino ya que son totalmente avasculares. El humor acuoso es producido por las crestas ciliares a un ritmo de 2,5 ml/min, acumulándose en cámara posterior que a través del iris y cristalino comunica con cámara anterior. Para evitar un aumento de la PIO, el ojo posee un sistema de drenaje en el ángulo iridocorneal (Fig. 2), llamado malla trabecular. La función de la

La malla trabecular es la filtración del humor acuoso a través del canal de Schlemm para su posterior absorción por el sistema venoso del ojo manteniendo una presión estable en torno a 10 - 20 mmHg. Cuando este sistema de drenaje falla aparece HTO (hipertensión ocular $21 > \text{mmHg}$), provocando daño en las células ganglionares de la retina y paulatinamente pérdida de visión periférica hasta provocar ceguera si no se trata precozmente (3).

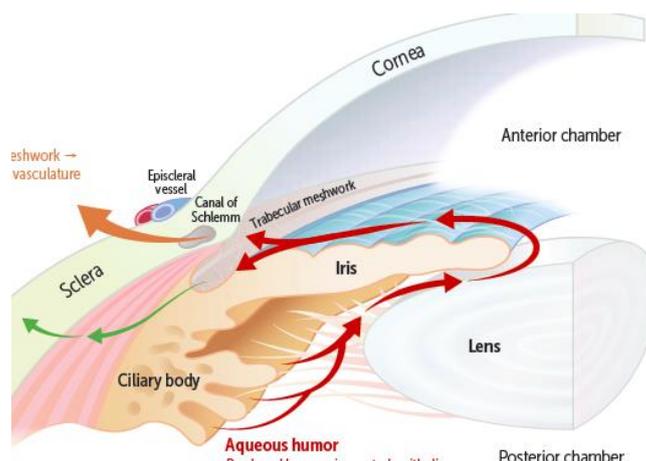


Figura 2. Sistema de drenaje del humor acuoso (“Modificada de Fernández G. del blog MasScience”)

El glaucoma puede ser congénito o adquirido; además se puede sub-clasificar en glaucoma de ángulo abierto o cerrado, dado el mecanismo por el cual se ve afectado el drenaje del humor acuoso con respecto a la configuración del ángulo iridocorneal. También se clasifica en primario o secundario; el glaucoma primario no está asociado a enfermedades sistémicas y/o oculares y normalmente afecta a ambos ojos, es decir, no se identifica una causa anatómica que ocasione la obstrucción del drenaje y la elevación de la PIO. Por el contrario, el glaucoma secundario, frecuentemente es unilateral y se asocia a enfermedades oculares y otros desórdenes sistémicos que de forma secundaria causan un aumento de la resistencia al drenaje del humor acuoso o al cierre angular. Aunque también existe un tipo de glaucoma que no está asociado a HTO, denominado glaucoma tensión normal (GTN) (3).

Hasta el momento la etiología del glaucoma es desconocida pero existen una serie de factores de riesgo que aumentan la probabilidad de padecerlo (4):

1. HTO: se considera el principal factor de riesgo.
2. Fluctuaciones de la PIO.
3. Edad. El riesgo de glaucoma aumenta con la edad (> 40 años).
4. Fragilidad. Es un estado de vulnerabilidad no específico asociado a la edad que resulta un mayor riesgo de aceleración física, deterioro cognitivo, discapacidad y muerte.
5. Antecedentes familiares y predisposición genética
6. Etnia. Los asiáticos tienen más riesgo de padecer GPAC mientras que la etnia negra GPAA.
7. Refracción. Más riesgo de GPAA con miopía elevada y GPAC en hipermetropes.
8. Hipertensión Arterial (HTA), hipotensión (hta), diabetes, migrañas y síndrome de apnea del sueño.
9. Hábitos tóxicos como el tabaco.
10. Síndrome de Raynaud (Vasoespasmos).
11. Medicación concomitante: corticoesteroides.

El GPAA, forma más común de glaucoma que a su vez se subdivide en juvenil o adulto, dependiendo de la edad en el que se diagnostique. Puede ser asintomático en etapas tempranas mientras que en etapas tardías cursa con pérdida visión periférica pudiendo progresar a visión en túnel incluso a ceguera. Clínicamente se observa excavación del nervio óptico o una asimetría de la misma entre ambos ojos, pérdida de campo visual e HTO. El tratamiento debe ir encaminado a drenar el humor acuoso mediante fármacos tópicos como betabloqueadores, inhibidores de la anhidrasa carbónica, agonistas alfa-adrenérgicos y análogos de prostaglandinas y colinérgicos. Para evitar su progresión también existen métodos quirúrgicos como puede ser trabeculoplastia con argón o trabeculectomía (3).

Por otra parte, el GPAC cursa con dolor agudo, penetrante y unilateral asociado a edema corneal, lagrimeo, ojo rojo, pupila arreactiva o hiporrefléctica, hiperemia limbal, visión borrosa o incluso síntomas vagales como pueden ser náuseas o vómitos. El tratamiento médico debe ir encaminado tanto a administración tópica de agentes supresores del humor acuoso como pueden ser betabloqueadores tópicos e inhibidores de la anhidrasa carbónica como administración sistémica de agentes osmóticos como el manitol ev. Una vez controlada la PIO, la solución consistirá en realizar una iridectomía (3).

El GCP es un tipo de glaucoma infantil que su etiología radica en una alteración en la formación de la malla trabecular, es decir, hay tejido mesodérmico que impide que se filtre el humor acuoso ocasionando así HTO. Clínicamente cursa con bftalmos, estrías de Haab (Fig. 3), edema y opacidad corneal, fotofobia y blefaroespasma, El tratamiento es quirúrgico ya sea mediante goniotomía, trabeculectomía o colocación de válvula de Ahmed (3).



Figura 3. Estrías de Haab (*“Modificada de Atlas of Ophthalmology online multimedia database”*)

Finalmente, el glaucoma pseudoexfoliativo (PXG) consiste en la formación y depósito fibrilar en la cámara anterior del ojo. De esta manera, se impide el drenaje del humor acuoso ocasionando así HTO y su consecuente daño glaucomatoso del NO. El tratamiento es similar a los pacientes con GPAA (3).

Genética del glaucoma

El glaucoma se describe como un grupo genéticamente muy heterogéneo. Los antecedentes familiares es un factor de riesgo y en algunas familias el glaucoma se transmite mediante herencia mendeliana con penetrancia reducida y expresividad variable, por lo tanto existe un gran condicionamiento genético a padecer la enfermedad. Por otra parte, también gran parte de los casos son esporádicos, por ello la hipótesis más aceptada es que es una enfermedad con una etiología multifactorial donde tanto el condicionamiento genético como los factores ambientales parecen cruciales (5).

Desde el punto de vista genético se pueden dividir en glaucoma monogénicos y de herencia compleja. Los glaucomas monogénicos incluyen a los glaucomas raros, como el GCP y el GPAA juvenil y en los glaucomas de herencia compleja se describiría el GPAA adulto. En los monogénicos intervienen múltiples factores, tanto genéticos como ambientales actuando ambos como factores de riesgo mientras que los de herencia compleja puede haber asociados hasta 15 genes en la aparición de la neuropatía. Los genes *MYOC* y *CYP1B1* son los que más frecuentemente se han asociado al desarrollo de glaucoma. Las mutaciones del gen *MYOC* aparece en el 2-4% de los pacientes mientras que las del gen *CYP1B1* en el 5-7% (6).

Papel del gen CYP1B1 en el glaucoma

El gen *CYP1B1* tiene su localización cromosómica en 2p22-p21 (Fig. 4), está compuesto por 3 exones y 2 intrones. El DNA codificante inicia su marco de lectura en el segundo exón, codificando una proteína de 543 aminoácidos. Forma parte de la familia del citocromo P450, con actividad expresada en el ojo, especialmente en el iris, la red trabecular, el cuerpo ciliar y otros tejidos como glándulas suprarrenales, los ovarios, los testículos, los pulmones, el útero y el riñón. Las proteínas del citocromo P450 son monooxigenasas que catalizan muchas reacciones implicadas en el metabolismo de fármacos y síntesis de colesterol, esteroides, y otros lípidos (7 - 9).

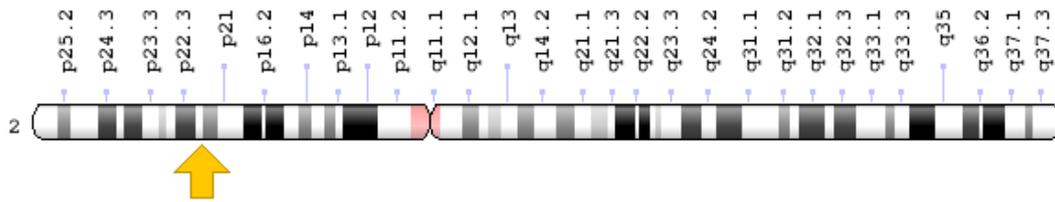


Figura 4. Localización cromosómica del gen *CYP1B1* (“Modificada de Natural Library of Medicine; Genetics home reference”)

Se han descrito muchas mutaciones en el gen *CYP1B1* en los diferentes tipos de glaucomas. Dichas mutaciones del gen *CYP1B1* provocan en mayor o menor medida la alteración de la actividad enzimática y estabilidad de la proteína, pudiendo ocasionar un factor de riesgo de la enfermedad (10). Aún con la gran cantidad de mutaciones descritas, todavía no se ha establecido una relación clara con la etiología del glaucoma.

La proteína *CYP1B1* se localiza en el retículo endoplásmico y participa en el metabolismo de sustratos endógenos y exógenos (11). Estudios en células de la malla trabecular de pacientes con glaucoma confirmaron un aumento del estrés oxidativo y una disminución de los niveles de Postn, lo que sugiere un posible mecanismo para el desarrollo del glaucoma (12). Se ha descrito que las variantes del gen *CYP1B1* podrían afectar al metabolismo del retinol, lo que altera el nivel de ácido retinoico, pudiendo alterar el crecimiento y diferenciación del desarrollo ocular. Por otra parte, también se ha descrito que mutaciones en el gen *CYP1B1* podrían afectar al metabolismo del 17β -estradiol, lo que puede contribuir al desarrollo de la enfermedad a través de la sobreexpresión de *MYOC* o al aumento de los niveles de especies reactivas de oxígeno y apoptosis (13).

JUSTIFICACIÓN

Se han publicado numerosos estudios en los cuales se describen la influencia que tienen las variantes génicas del gen *CYP1B1* en la predisposición a sufrir glaucoma. Dichos trabajos han sido realizados con diferentes poblaciones de pacientes, de controles y muchas veces con resultados contradictorios. Ante esta situación, planteamos realizar una revisión sistemática de la literatura y un meta-análisis, con el fin de evaluar la influencia de la presencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* en el riesgo de desarrollar glaucoma. La finalidad de nuestro trabajo es esclarecer el papel que desempeña el gen *CYP1B1* en la fisiopatología del glaucoma y con ello aportar información que favorezca el diagnóstico, tratamiento y prevención del glaucoma. Nuestros resultados podrán ser de especial utilidad en el diagnóstico genético de la enfermedad lo cual podría permitir un diagnóstico precoz y llevar a cabo acciones de consejo genético en los casos familiares.

HIPÓTESIS

Las mutaciones y polimorfismos del gen *CYP1B1* podrían predisponer al desarrollo de glaucoma.

PICOT

- **Paciente (P):** pacientes que sufren glaucoma.
- **Intervención (I):** variantes genéticas en el gen *CYP1B1*.
- **Comparación (C):** sujetos sin glaucoma.
- **Resultados/Outcomes (O):** influencia de la presencia de variantes génicas en *CYP1B1* y el desarrollo de glaucoma.
- **Tiempo (T):** revisión de toda la bibliografía que cumpla criterios de inclusión y exclusión.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar la influencia de ser portador de mutación del gen *CYP1B1* en el riesgo de sufrir glaucoma.

OBJETIVO SECUNDARIO

Estudiar el papel de las mutaciones del gen *CYP1B1* en el riesgo de sufrir diferentes variantes clínicas de glaucoma.

MATERIAL Y MÉTODOS

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyeron todos los artículos científicos basados en el estudio de la frecuencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* en pacientes diagnosticados de glaucoma. Únicamente se incluyeron trabajos que también analizaran la frecuencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* en sujetos no diagnosticados de glaucoma (grupo control).

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron todos los artículos que no analizaran mutaciones en el gen *CYP1B1*, no incluyeran pacientes diagnosticados de glaucoma y que no incluyeran grupo control. Finalmente, también se excluyeron artículos que no estuvieran redactados en inglés o español.

DISEÑO

Se realizó una revisión sistemática y un posterior meta-análisis de los estudios de casos y controles relacionados con el gen *CYP1B1* en los diferentes tipos de glaucoma.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Pubmed/MedLine, Embase, Scopus y Web of Science para identificar todos los estudios de casos y controles realizados hasta el momento. Se seleccionaron los que evaluaban las mutaciones y polimorfismos del gen *CYP1B1* en el desarrollo del glaucoma que cumplieran los criterios de inclusión. Se emplearon los siguientes términos de búsqueda: “(“*glaucoma*” AND “*CYP1B1*” AND (“*mutations*” OR “*variants*” OR “*polymorphisms*”))”. Para

minimizar el riesgo de sesgo no hubo restricciones en el tamaño muestral analizado.

ESTRATEGIA DE SELECCIÓN

Se seleccionaron todos los estudios de casos y controles que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión de la revisión definidos previamente, fueron evaluados independientemente por un revisor (Noelia Calero Dueñas) y supervisados por un segundo (Ricardo Usategui Martín), al igual que los datos extraídos. Para la selección final se requirió un consenso total entre los dos revisores.

OBTENCIÓN DE DATOS

Los datos extraídos de la búsqueda primaria incluyeron nombre de los autores, año de la publicación, lugar de estudio, etnia de los individuos incluidos, tipos de glaucoma y controles sanos, información demográfica (edad y sexo) de los casos y controles estudiados, número de mutados en el gen *CYP1B1* en ambos grupos, tanto variantes como polimorfismos, en casos y controles.

La calidad de los estudios seleccionados no se tuvo en cuenta en la inclusión en el estudio ya que se pretendía realizar una recopilación de todos las variantes y polimorfismos de los glaucomas estudiados.

Como resultado de la búsqueda y con el fin de analizar asociación estadística, se realizaron los siguientes grupos de individuos

- ✓ Glaucoma Primario de ángulo abierto (GPAA).
- ✓ Glaucoma Primario de ángulo abierto juvenil (GPAA juvenil).
- ✓ Glaucoma Primario de ángulo abierto adulto (GPAA adulto).
- ✓ Glaucoma Congénito Primario (GCP).
- ✓ Glaucoma Pseudoexfoliativo (PXG).
- ✓ Glaucoma Primario de ángulo cerrado (GPAC).
- ✓ Individuos sanos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizaron distintos meta-análisis comparando la distribución de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre los grupos de individuos que hayan sido publicados en tres o más artículos incluidos en nuestro meta-análisis. Ello nos permitió comparar:

1. Pacientes con glaucoma vs. Sujetos sanos.
2. Pacientes con GPPA vs. Sujetos sanos.
3. Pacientes con GCP vs. Sujetos sanos.
4. Pacientes con GPPA adulto vs. Pacientes con GPAA juvenil.

La relación estadística se estimó a partir del odds ratio (OR) con su intervalo de confianza (IC) al 95% para cada estudio. A partir de los datos tabulados se calcularon las OR y sus IC del 95% de cada estudio individual. Para combinar los resultados de los estudios individuales seleccionados, se empleó un modelo de efectos aleatorios (método DerSimonian y Laird). Se consideró como resultado estadísticamente significativo la obtención de un p-valor < 0,05.

Para estimar y cuantificar la heterogeneidad entre los diferentes estudios se empleó el test estadístico Q de Cochran. La obtención de un valor de $P < 0,10$ indicaba heterogeneidad estadísticamente significativa en los resultados. El test estadístico I^2 se empleó para estimar la inconsistencia en los meta-análisis realizados, representando el porcentaje de variabilidad entre los estudios debida a la heterogeneidad de los mismos y no al simple azar. De esta manera, los valores de I^2 comprendidos entre el 0 y el 25% indicaban no heterogeneidad, los valores entre el 25 y el 50%, el 50 y el 75% y el 75 y el 100% correspondían a grados moderados, altos y extremos de heterogeneidad, respectivamente (14).

Se utilizó el programa informático Review Manager (RevMan), versión 5.3 (*Cochrane Collaboration*) para realizar el meta-análisis.

RESULTADOS

En la figura 5 se muestra el diagrama de flujo de los trabajos revisados en nuestro estudio y finalmente incluidos en el meta-análisis. Inicialmente se seleccionaron 255 artículos para su inclusión. Se descartó un trabajo por ser un meta-análisis. Posteriormente se descartaron 145 artículos porque no tenían grupo control incluido en su estudio, 75 trabajos fueron descartados porque no cumplieron los criterios de inclusión, en 5 trabajos no pudimos obtener el texto completo por lo que también fueron descartados. Finalmente también se descartaron 7 artículos porque en ellos no aparecía especificada la frecuencia de pacientes/controles portadores de mutación en el gen *CYP1B1*. Por todo ello, y resultante del proceso de selección, 23 artículos fueron incluidos en el meta-análisis de la influencia del ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* y el riesgo de padecer glaucoma (1, 5, 7-9, 11, 13, 15-30).

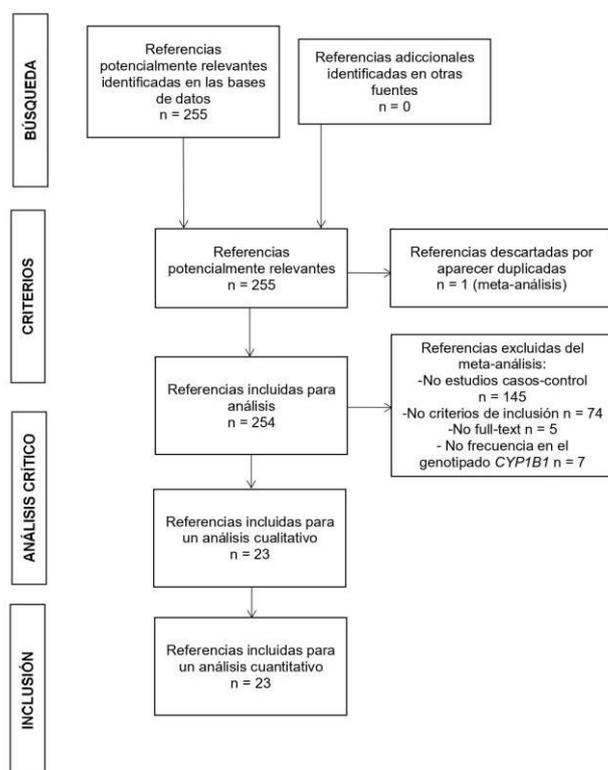


Figura 5. Diagrama de flujo de los trabajos revisados en nuestro estudio e incluidos en el meta-análisis.

En la tabla 1 se recogen las características de los trabajos incluidos en el meta-análisis. Se incluyeron 4217 pacientes con glaucoma y a 4443 individuos sanos. Del total de los pacientes con glaucoma, 3886 pacientes tenían GPAA (164 en jóvenes y 389 en pacientes adultos) y 252 pacientes tenían GPC (tabla 1). Para realizar el estudio genético del gen *CYP1B1*, todos los estudios usaron DNA extraído de las células mononucleadas de sangre periférica.

La mayoría de los artículos incluyeron a los casos usando el criterio de inclusión PIO > 21 mmHg, aunque también fue criterio de inclusión PIO > 22 mmHg (15, 26). Do *et al* (27) y Melki *et al* (16) tuvieron en cuenta la PIO mientras que Dimasi *et al* (20) y Patel *et al* (25) tuvieron en cuenta una PIO elevada, sin embargo ninguno especificó la medida exacta. El resto de los artículos no tuvieron en cuenta la PIO (o no la especificaron) (9, 13, 19, 24) a la hora de incluir a los pacientes a los diferentes estudios, aunque posteriormente una vez incluidos los pacientes en uno de los artículos, vieron que el 78.9% padecían HTO (19). Sin embargo, López Garrido *et al* (18) para que los dos grupos de pacientes fueran homogéneos, tuvieron en cuenta una PIO < 21 mmHg controlada con tratamiento médico.

De los artículos seleccionados para estudiar el gen *CYP1B1*, se incluyeron estudios de diferentes países; China (7, 26, 30), Francia (16), Alemania (5), España (1, 18), Canadá (15), US (13), Brasil (29), Arabia Saudí (9), Irán (22), Pakistán (11), India (17, 19, 21, 23, 28), Marruecos (8), Vietnam (27), Nueva Zelanda (25) y Australia (20, 24). Sin embargo, sólo una pequeña proporción reflejaba la etnia de los individuos incluidos; siendo la caucásica (5, 13, 16, 18, 25) la más estudiada aunque también se estudió etnia africana (8) y asiática (26).

Tabla 1. Características de los trabajos incluidos en el meta-análisis. GPAA: glaucoma primario de ángulo abierto, GPC: glaucoma primario congénito, DE: desviación estándar, NE: no especificado.

Autores, año	Grupos de individuos	Número de individuos (N)	País de origen	Etnia	Edad (media/DE)	Sexo		Mutación <i>CYP1B1</i>	
						Mujer	Hombre	Si	No
Vicent et al, 2002.	GPAA juvenil	60	Canadá	NE	NE	29	31	3	57
	Sujetos sanos	100	Canadá	NE	NE	100		0	100
Melki R et al, 2004.	GPAA	235	Francia	Caucásica	40	235		11	224
	Sujetos sanos	47	Francia	Caucásica	NE	47		0	47
Achayra M et al, 2006.	GPAA adulto	166	India	NE	52.43/19.33	166		5	161
	GPAA juvenil	34	India	NE		34		4	30
	GPAA total	200	India	NE		200		9	191
	Sujetos sanos	100	India	NE	53.86/8.92	100		0	100
López-Garrido et al, 2006.	GPAA	82	España	Caucásica	62.7/11.0	37	45	10	72
	Sujetos sanos	93	España	Caucásica	59.6/12.3	53	40	1	92
Chakrabarti S et al, 2007.	GPAA adulto	104	India	NE	51.3/12.22	104		18	86
	GPAA juvenil	30	India	NE	20,1/8,78	30		7	23
	GPAA total	134	India	NE	NE	134		25	109
	Glaucoma total	224	India	NE	NE	224		35	189
	Sujetos sanos	200	India	NE	57.4/12.43	200		0	200
Kumar et al, 2007.	GPAA adulto	251	India	NE	NE	251		23	228
	Sujetos sanos	93	India	NE	NE	93		0	93
Dimasi et al, 2007.	GCP	37	Australia	NE	NE	37		8	29
	Sujetos sanos	100	Australia	NE	NE	100		0	100
Bayat et al, 2008.	GPAA juvenil	23	Irán	NE	21.3/8.91	23		4	19
	Sujetos sanos	100	Irán	NE	NE	100		0	100
Yang et al, 2009.	GCP	41	China	NE	NE	41		6	35
	Sujetos sanos	80	China	NE	NE	80		0	80
López-Garrido et al, 2009.	GPAA adulto	245	España	NE	65.8/11.7	135	110	8	237
	Sujetos sanos	326	España	NE	66.6/13.2	161	165	5	321
Bhattacharjee A et al, 2009.	GPAA	264	India	NE	55.69/16.78	264		16	248
	Sujetos sanos	95	India	NE	NE	95		38	57
Pasutto et al, 2010.	GPAA	399	Alemania	Caucásica	66.9/13.4	399		24	375
	Sujetos sanos	376	Alemania	Caucásica	73.9/6.4	376		22	354
Burdon K et al, 2010.	GPAA adulto	860	Australia	NE	74.8	447	413	34	826
	Sujetos sanos	898	Australia	NE	80.5	475	423	28	870
Hilal L et al, 2010.	GCP	90	Marruecos	Africana	26 días	38	52	43	47
	Sujetos sanos	100	Marruecos	Africana	NE	100		0	100
Patel et al, 2011.	GPAA	57	Nueva Zelanda	Caucásica	NE	57		6	51
	Sujetos sanos	100	Nueva Zelanda	Caucásica	40/22	100		4	96
Do et al, 2014.	GCP	30	Vietnam	NE	NE	13	17	5	25
	Sujetos sanos	120	Vietnam	NE	NE	120		0	120
Micheal S et al, 2015.	GPAA	190	Pakistán	NE	NE	190		8	182
	Sujetos sanos	140	Pakistán	NE	NE	140		5	135
Gong B et al, 2015.	GPAA	416	China	Asiática	51.2/8.94	416		25	391
	Sujetos sanos	657	China	Asiática	58.1/15.2	657		8	649
Reis LM et al, 2016.	GCP	41	US	Caucásica	NE	41		7	34
	GPAA juvenil	26	US	Caucásica	NE	26		0	26
	GPAA adulto	193	US	Caucásica	61.2	115	78	4	189
	GPAA total	219	US	Caucásica	NE	209		4	215
	Glaucoma total	260	US	Caucásica	NE	260		11	249
	Sujetos sanos	288	US	Caucásica	55.3	169	119	3	285
Svidnicki et al, 2018.	GPAA juvenil	90	Brasil	NE	25.5/8.92	38	62	32	58
	Sujetos sanos	200	Brasil	NE	NE	77	123	65	135
Abu-Amero K et al, 2018.	GPAA	50	Arabia Saudí	NE	58,8/11,5	19	31	4	46
	Sujetos sanos	50	Arabia Saudí	NE	60,2/8,2	21	29	2	48
Kaur et al, 2018.	GPAA adulto	92	India	NE	52.5/12.0	25	67	9	83
	GPAA juvenil	8	India	NE	27.9/16.2	2	6	1	7
	Glaucoma total	100	India	NE	NE	100		10	90
	Sujetos sanos	130	India	NE	NE	100		0	130
Song et al, 2019.	GCP	13	China	NE	3 meses	1	12	1	12
	Sujetos sanos	50	China	NE	NE	50		0	50

En la tabla 2 se recogen las variantes genéticas descritas en los pacientes diagnosticados de glaucoma y en los individuos control incluidos en nuestro trabajo. Se observa la presencia de variantes exónicas de cambio de sentido, silenciosas y mutaciones sin sentido. También se describen mutaciones de cambio de fase de lectura y variantes polimorfas (Tabla 2).

Tabla 2. Variantes genéticas descritas en el gen *CYP1B1* en pacientes con glaucoma.

Variantes descritas en el gen <i>CYP1B1</i>			
p.Ser6Gly	p.Thr234Met	p.Trp434Arg	p.Pro442Glnfs*15
p.Pro12Leu	p.Ser239Arg	p.Pro437Leu	c.535delG
p.Ser28Trp	p.Leu240Gln	p.Ala442Gly	g.4330–4431delTG
p.Arg48Gly	p.Val243Val	p.Ala443Gly	g.4339delG
p.Pro52Leu	p.Arg259Cys	p.Arg444Gln	g.4531del22bp
p. Gly53Ser	p.His279Leu	p. Phe445Cys	g.4633delC
p.Trp57Cys	p.Leu283Phe	p.Asp449Asp	g.7901-7913del
p.Gly61Glu	p.Ala287Pro	p.Asn453Ser	g.8148-8152del5bp
p.Tyr81Asn	p.Ala287Thr	p.Phe455Cys	c.1200_1210dup
p.Pro93Ser	p.Ala295Thr	p.Val465Ala	rs10916
p.Val95Ala	p.Glu299Lys	p.Arg469Trp	rs162549
p.Leu107Val	p.Val320Leu	p.Cys470Tyr	rs162556
p.Ala119Ser	p. Gly329Asp	p.Ile471Ser	rs162562
p.Gln144Arg	p.Gly329Val	p.Leu475Pro	rs10175368
p.Gln144His	p.Ala330Phe	p.Leu482Leu	c.-1-12C>T
p.Arg145Trp	p.Ser336Tyr	p. Ser512Leu	g.372-12C>T
p.Arg163Cys	p.Leu345Phe	p. Ser515Leu	c.IVS1-12C>T
p.Gly168Asp	p.Val364Met	p.Val518Ala	c.IVS1-14-15delTC
p.Glu173Lys	p.Arg368His	p.Arg523Thr	
p.Gly188Gly	p.Glu387Lys	p.Asp530Gly	
p.Asp192Tyr	p.Arg390His	p. Trp57X	
p.Pro193Leu	p.Val395Val	p.Gln362*	
p.Val198Ile	p.Pro400Pro	p.Ala179Argfs*18	
p.Asn203Ser	p.Val409Phe	p.Arg355Hisfs*19	
p.Glu229Lys	p.Leu432Val	p.Arg355Hisfs*69	

Los resultados del estudio de la influencia de ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* en el riesgo de padecer glaucoma se recogen en las figuras 6-9. Los resultados del meta-análisis de la posible influencia de ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* y el riesgo de padecer glaucoma mostraron que tener mutado el gen *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de sufrir glaucoma (p -value<0,0001, OR= 4,86; IC (95%)=2,36-9,99) (Fig.6).

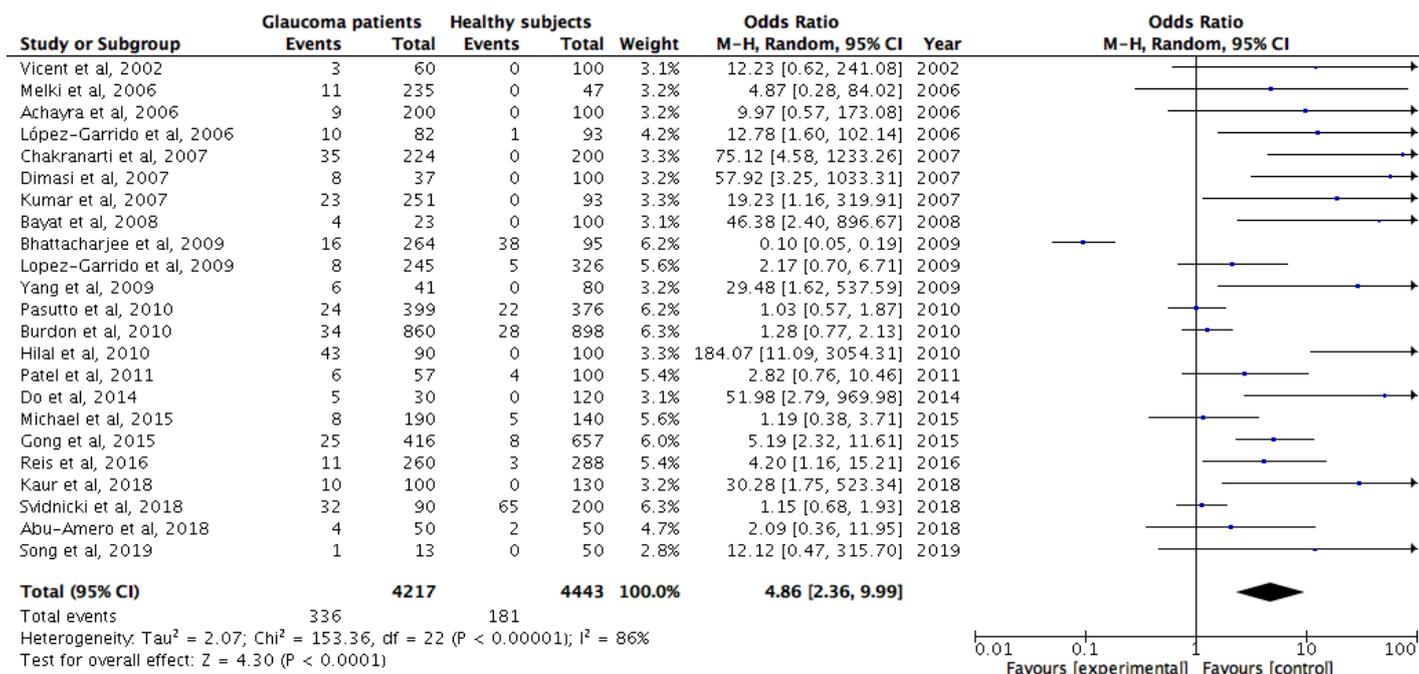


Figura 6. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre el total de pacientes con glaucoma y el grupo de individuos sanos.

Nuestros resultados también asociaron el ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* con un mayor riesgo de sufrir GPAA (p-value=0,005; OR=2,78, IC (95%)=1,37-5,65) (Fig. 7)

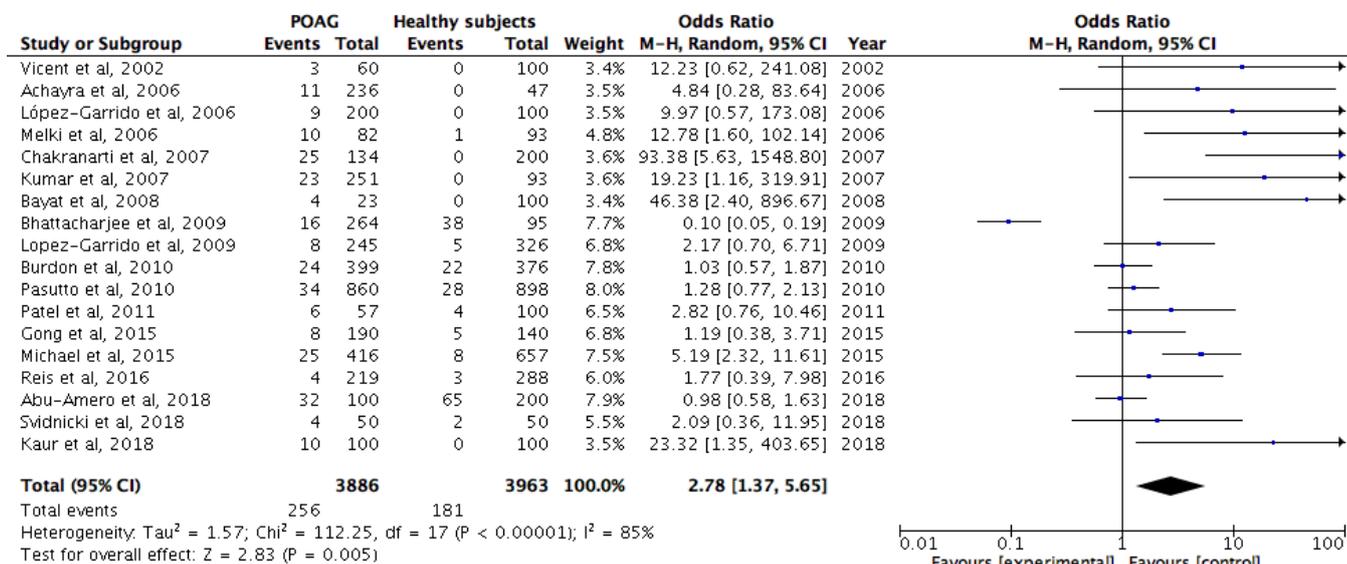


Figura 7. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre los pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto y el grupo control.

En el estudio de la influencia de la presencia de variantes genéticas en el gen *CYP1B1* en el riesgo de sufrir GCP, nuestros resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas. Ser portador de mutaciones en *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de padecer GCP (p-value<0,00001; OR= 31,91, IC (95%)=12,23-83,24) (Fig. 8).

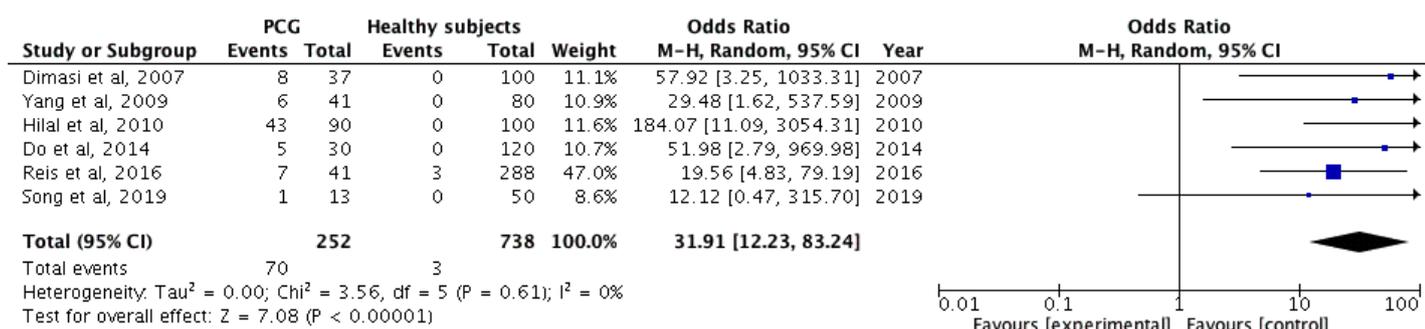


Figura 8. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre los pacientes con glaucoma primario congénito y el grupo control.

Finalmente, nuestro estudio no mostró asociación estadísticamente significativa en el análisis de la influencia de ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* con el padecer GPAA entre adultos y jóvenes (p-value=0,62, OR=1,41; IC (95%)=0,36-5,50) (Fig. 9).

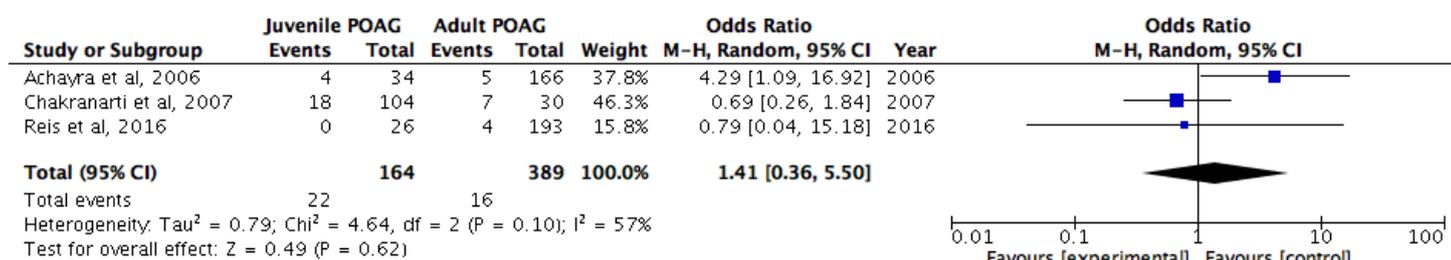


Figura 9. Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre los pacientes jóvenes con GPAA y los pacientes adultos con GPAA

El estudio de sensibilidad no modificó ninguno de los resultados anteriormente expuestos. El estudio en función de la etnia no se realizó pues mucho de los artículos incluidos en nuestro trabajo no la especificaban (tabla 1).

Mediante la visualización de los diagramas de Begger hemos analizado el sesgo de publicación de los trabajos incluidos en nuestro meta-análisis (Fig. 10), todos ellos mostraron una distribución simétrica. Cuando el número de trabajos incluidos en el meta-análisis es inferior a diez no es obligatorio hacer el estudio de sesgo pues se considera que las diferencias no pueden ser realmente apreciadas; aun así, nosotros hemos hecho el análisis de sesgo en las cuatro comparaciones llevadas a cabo.

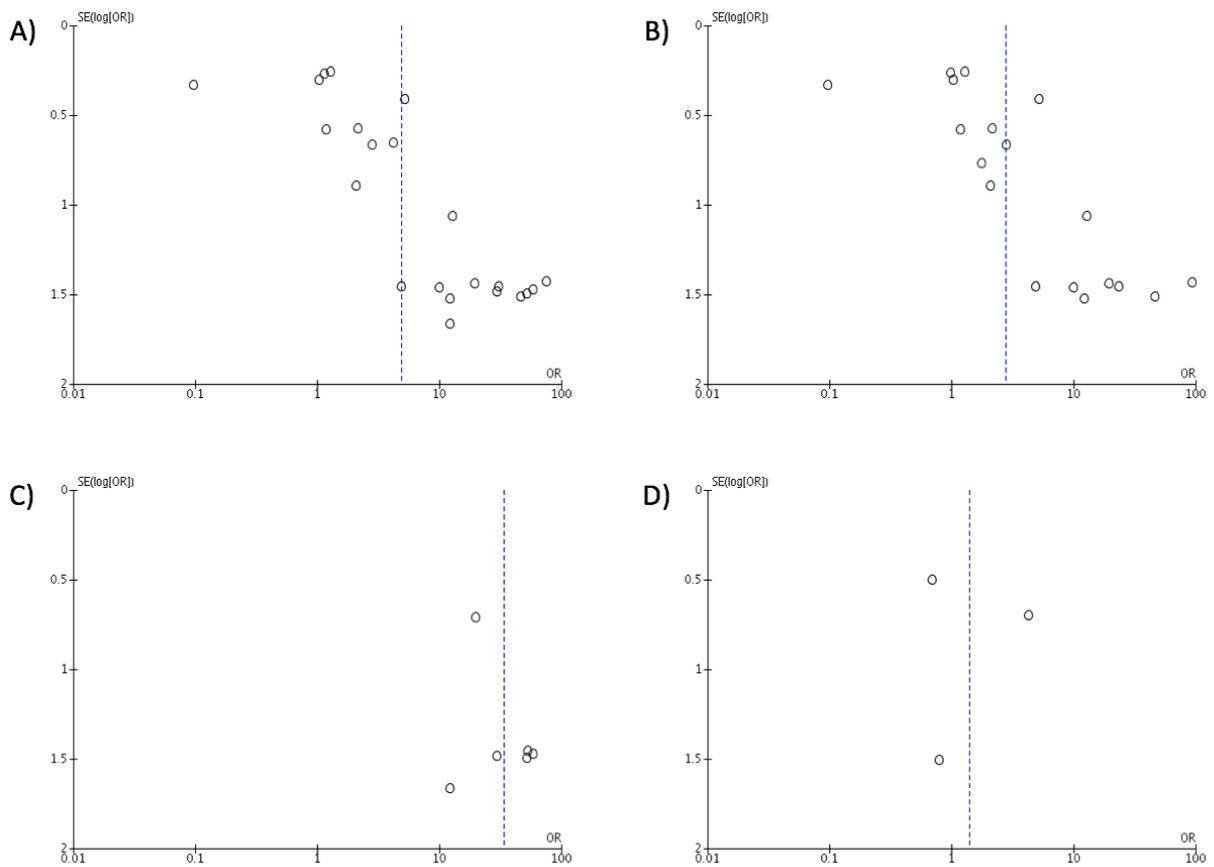


Figura 10. Diagramas de Begger de los estudios incluidos en el meta-análisis de la influencia de mutaciones en el gen *CYP1B1* entre pacientes con glaucoma y sujetos sanos (A), entre pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto e individuos sanos (B), entre pacientes con glaucoma primario congénito y controles (C) y entre pacientes jóvenes con glaucoma primario de ángulo abierto y pacientes adultos con glaucoma primario de ángulo abierto (D).

DISCUSIÓN

El glaucoma consiste en la muerte apoptótica de las células ganglionares de la retina provocando una excavación del nervio óptico y en consecuencia pérdida de CV y ceguera en algunos casos (1). Desde el punto de vista etiológico es una de las afecciones más heterogéneas pues entran en juego factores ambientales y genéticos. Desde el descubrimiento del primer gen asociado al glaucoma, han sido muchos los genes que se han asociado con el desarrollo del glaucoma, siendo uno de ellos el gen *CYP1B1* (6). El gen *CYP1B1* participa en el metabolismo de sustratos endógenos y exógenos (11), expresado en el ojo fetal y adulto, especialmente en el iris, la red trabecular y el cuerpo ciliar (15).

Aun siendo muchos los artículos que han analizado la posible influencia de las mutaciones en el gen *CYP1B1* en la prevalencia del glaucoma, no se ha llegado a un consenso claro de si tener mutaciones en el gen *CYP1B1* modifica el riesgo de sufrir glaucoma. Por ello el objetivo de nuestro trabajo fue la realización de una revisión sistemática y un meta-análisis para evaluar la relación entre el tener mutaciones en el gen *CYP1B1* mutado y el riesgo de padecer glaucoma. Nuestro trabajo incluyó el estudio de 4217 pacientes con glaucoma y a 4443 individuos sanos. Del total de los pacientes con glaucoma, 3886 pacientes tenían GPAA (164 en jóvenes y 389 en pacientes adultos) y 252 pacientes tenían GPC.

Nuestros resultados mostraron que el ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de desarrollar glaucoma, GPAA y GPC. Por otra parte, nuestro meta-análisis también mostró que el ser portador de mutación en el gen *CYP1B1* no modifica el riesgo de padecer GPAA en edad juvenil o adulta.

La mutación sin sentido p.R390H ha sido asociada con el 9,8% de los pacientes chinos con GCP (7), mientras que entre los pacientes marroquíes y pakistaníes solo se ha descrito en un paciente (8, 11). En un paciente con un fenotipo severo de glaucoma refractario a tratamiento quirúrgico, se

describieron las mutaciones p.R390H y p. A330H (30). Hilal *et al* (8) describieron la mutación p.G61E en 7 pacientes con GCP bilateral (7.77%), también describió otro paciente con GCP que no tenía la mutación pero sí la madre. Reis *et al* (13) describieron la mutación p.G61E en dos pacientes caucásicos con GCP. Dicha mutación también se describió en 2 casos de GPAA juvenil en población India (21). Do *et al* (27) atribuyeron el 16.7% de las mutaciones del gen *CYP1B1* a los pacientes con GCP y ninguna a los individuos control, sugiriendo que la alteración del gen provoca un riesgo de padecer la enfermedad, resultados que se confirman con los resultados de nuestro meta-análisis. Hilal *et al* (8) también mostraron que la delección g.4339delG es la mutación que más frecuentemente se asocia con GCP en la población marroquí (34.44%). La mutación g.4339delG y el resto de mutaciones que causen una delección o inserción causan un cambio de fase en la traducción del gen, es decir como consecuencia de dichas mutaciones se sintetizará una proteína aberrante, pudiendo ser esa la causa del desarrollo del fenotipo patológico. Por otra parte, en los resultados también describimos mutaciones localizadas tanto en la región promotora como en los intrones del gen *CYP1B1*, dichas regiones son zonas reguladoras de la transcripción del gen; por lo que mutaciones en estas regiones causarían una alteración de la síntesis de la proteína y con ello un aumento del riesgo a padecer glaucoma.

La variante p.R368H se describió en homocigosis en un paciente con GCP bilateral (13) y en el 5.4% de los pacientes en Australia (20). Sin embargo, un paciente con la mutación, en el nacimiento debutó con GCP en un ojo, mientras que posteriormente fue diagnosticado de GPAA juvenil en el otro (22). Esta asociación también la describieron Chakrabarti *et al* (21) entre el GPAA adulto y GPAA juvenil en diferentes pacientes. Además, se observó que el 3.98% de los pacientes mutados con GPAA adulto por esta variante eran de la India (19) y 0.24% eran de China (26). En pacientes con GPAA juvenil en pacientes del norte de la India, esta variante en heterocigosis es más alta (10%) que los estudios anteriores mencionados (28). Con estos datos deduciríamos que p.R368H es una variante con un alto factor de riesgo para desarrollar cualquier tipo de glaucoma estudiado. El cambio de una histidina por una arginina en la posición 368 de la proteína podría modificar la

funcionalidad de la proteína lo que podría aumentar el riesgo de sufrir glaucoma. Passuto *et al* (5) confirmaron que la mutación provoca una reducción de la actividad enzimática provocando así una pérdida de la función de la proteína.

El polimorfismo p.Leu432Val se ha sido descrito en pacientes con GPAA (17, 23) en poblaciones de la India. La variante p.N453S se ha descrito en pacientes procedentes de Francia (16). Sin embargo, Burdon *et al* (24) no relacionan ninguno de los polimorfismos con el riesgo de sufrir GPAA en general, pero sí que pueden ser asociados con un fenotipo severo de GPAA en población caucásica. Estas variantes genéticas podrían producir una desestabilización proteica (favoreciendo su degradación) o causar un cambio estructural que produzca un aumento del riesgo de sufrir glaucoma.

Mutaciones del gen *CYP1B1* en raras ocasiones se ha asociado con el desarrollo de GPAA juvenil mediante herencia monogénica (17), mientras que por otro lado se ha descrito que el gen *CYP1B1* puede provocar la sobre-expresión del gen *MYOC* en este tipo de pacientes (15). Svidnicki *et al* (29) describieron que un alto porcentaje (34%) de pacientes con GPAA juvenil brasileños poseen mutación en el gen *MYOC*, mientras que mutaciones en el gen *CYP1B1* sólo fue descrito en el 2% de los casos. Bayat *et al* (22) afirmaron que tanto el gen *MYOC* como el gen *CYP1B1* intervinieron por igual en el desarrollo de GPAA juvenil.

López-Garrido *et al* (18) en un primer estudio sugirieron que mutaciones en heterocigosis en el gen *CYP1B1* podría aumentar la susceptibilidad de padecer GPAA en pacientes españoles, mientras que otro estudio posterior del mismo autor y misma población secuenció mutaciones hipomórficas también en heterocigosis en el 6,7% de la población estudiada; asociadas a un aumento del riesgo de padecer GPAA (1). Sin embargo en una muestra de 50 casos y 50 controles, Abu-Amero *et al* (9) no describieron asociación entre tener mutaciones en el gen *CYP1B1* y un mayor riesgo de sufrir glaucoma, posiblemente porque en la metodología no se incluyeron pacientes con HTO, el mayor factor de riesgo asociado al glaucoma, sin embargo sí reflejaron otros criterios de inclusión como anomalías en el campo visual, cambios

progresivos en el nervio óptico y ángulo iridocorneal abierto visualizado mediante gonioscopia. Ante esta controversia, nuestro trabajo concluye que tener mutaciones en el gen *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de sufrir glaucoma.

Nuestro meta-análisis mostró que el ser portador de mutación en el gen *CYP1B1* no modifica el riesgo de padecer GPAA en edad juvenil o adulta, lo cual nos sugiere que la edad de aparición de la sintomatología asociada al GPAA no depende del ser o no ser portador de mutación en el gen *CYP1B1*.

En el presente trabajo también describimos que ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* se asocia tanto con un mayor riesgo tanto de padecer glaucoma como de sufrir GPAA y GPC. Probablemente, las variantes en el gen *CYP1B1* anteriormente descritas causen una funcionalidad anómala de la proteína lo cual podría asociarse con alteraciones fisiológicas en la parte anterior del ojo provocando una variación en el drenaje del humor acuoso y por ello el aumento de la susceptibilidad a sufrir la enfermedad. El conocer qué mutaciones en el gen *CYP1B1* se asocian con un mayor riesgo de desarrollar glaucoma es de vital importancia a la hora del diagnóstico precoz de la enfermedad para así intentar prevenir la mayor sintomatología posible. En los casos familiares, también de vital importancia pues nos permitirán llevar acciones de consejo genético encaminadas a la prevención en los familiares de los pacientes. Por otra parte, nuestro trabajo sienta las bases para futuras investigaciones encaminadas a dilucidar los mecanismos moleculares por los cuales el gen *CYP1B1* puede estar involucrado en el desarrollo de la enfermedad, siendo ello la base para el desarrollo de nuevas terapias.

La principal limitación de nuestro trabajo es que no se ha podido realizar un estudio de la influencia de ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* en el desarrollo de glaucoma estratificándolo por la etnia de los diferentes pacientes y controles. Otra limitación es que solo se han podido estudiar el GPAA y el GPC, pues del resto de tipos de glaucoma no había artículos publicados suficientes para su análisis. Como principales fortalezas de nuestro trabajo fueron la gran cantidad de pacientes y controles estudiados y la

heterogeneidad de los mismos ya sea por su procedencia como las características: edad, patología o etnia.

CONCLUSIÓN

1. Nuestros resultados muestran que ser portador de mutaciones en el gen *CYP1B1* se asoció con un mayor riesgo de padecer tanto glaucoma en general, como glaucoma primario de ángulo abierto, como glaucoma primario congénito; lo cual confirma el papel crucial de dicho gen en la etiología de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. López-Garrido MP, Blanco-Marchite C, Sánchez-Sánchez F, López-Sánchez E, Chaqués-Alepuz V, Campos-Mollo E et al. Functional analysis of *CYP1B1* mutations and association of heterozygous hypomorphic alleles with primary open-angle glaucoma. *Clin Genet*. 2010 Jan;77(1):70-8.
2. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014 Nov;121(11):2081-90.
3. Graue E. *Oftalmología en la práctica de la medicina general*. 3ª ed. Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana; 2019. 163-173p.
4. Mc Monnies CW. Glaucoma history and risk factors. *J Optom*. 2017 Apr-Jun; 10(2):71-78.
5. Pasutto F, Chavarria-Soley G, Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Ingelman-Sundberg M, Fernández-Martínez L et al. Heterozygous Loss-of-Function Variants in *CYP1B1* Predispose to Primary Open-Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Jan;51(1):249-54.
6. Escribano J. Genética del glaucoma: la luz al final del túnel catorce años después. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2010;85(11):353-354.
7. Yang M, Guo X, Liu X, Shen H, Jia X, Xiao X et al. Investigation of *CYP1B1* mutations in Chinese patients with primary congenital glaucoma. *Mol Vis*. 2009;15:432-7.
8. Hilal L, Boutayeb S, Serrou A, Refass-Buret L, Shisseh H, Bencherifa F, et al. Screening of *CYP1B1* and *MYOC* in Moroccan families with primary congenital glaucoma: Three novel mutations in *CYP1B1*. *Mol Vis*. 2010 Jul 2;16:1215-26.
9. Abu-Amero K, Sultan T, Al-Obeidan SA, Kondkar A. Analysis of *CYP1B1* sequence alterations in patients with primary open-angle glaucoma of Saudi origin. *Clin Ophthalmol*. 2018;12:1413–1416.
10. Mookherjee S, Acharya M, Banerjee D, Bhattacharjee A, Ray K. Molecular basis for involvement of *CYP1B1* in *MYOC* upregulation and its potential implication in glaucoma pathogenesis. *PLoS One*. 2012;7(9):e45077.

11. Micheal S, Ayub H, Zafar SN, Bakker B, Ali M, Akhtar F et al. Identification of novel *CYP1B1* gene mutations in patients with primary congenital and primary open-angle glaucoma. *Clin Exp Ophthalmol*. 2015 Jan-Feb;43(1):31-9.
12. Zhao Y, Wang S, Sorenson CM, Teixeira L, Dubielzig RR, Peters DM, et al. *CYP1B1* mediates periostin regulation of trabecular meshwork development by suppression of oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2013;33:4225-40.
13. Reis LM, Tyler RC, Weh E, Hendee KE, Kariminejad A, Abdul-Rahman O et al. Analysis of *CYP1B1* in pediatric and adult glaucoma and other ocular phenotypes. *Mol Vis*. 2016;22:1229–1238.
14. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* [Internet]. 2003 Sep 6 [citado May 16];327(7414):557-60. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12958120>
15. Vicent AL, Billingsley G, Buys Y, Levin AV, Priston M, Trope G, et al. Digenic inheritance of early-onset glaucoma: *CYP1B1*, a potential modifier gene. *Am J Hum Genet*. 2002 Feb;70(2):448-60.
16. Melki R, Colomb E, Lefort N, Brézin AP, Garchon HJ. *CYP1B1* mutations in French patients with early-onset primary open-angle glaucoma. *J Med Genet* 2004;41:647–651.
17. Acharya M, Mookherjee S, Bhattacharjee A, Bandyopadhyay AK, Daulat Thakur SK, Bhaduri G et al. Primary role of *CYP1B1* in Indian juvenile-onset POAG patients. *Mol Vis*. 2006 Apr 20;12:399-404.
18. López-Garrido MP, Sánchez-Sánchez F, López-Martínez F, Aroca-Aguilar JD, Blanco-Marchite C, Coca-Prados M et al. Heterozygous *CYP1B1* gene mutations in Spanish patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*. 2006 Jul 11;12:748-55.
19. Kumar A, Basavaraj MG, Gupta SK, Qamar I, Ali AM, Bajaj V et al. Role of *CYP1B1*, *MYOC*, *OPTN* and *OPTC* genes in adult-onset primary open-angle glaucoma: predominance of *CYP1B1* mutations in Indian patients. *Mol Vis*. 2007 Apr 30;13:667-76.

20. Dimasi DP, Hewitt AW, Straga T, Pater J, MacKinnon JR, Elder JE et al. Prevalence of *CYP1B1* mutations in Australian patients with primary congenital glaucoma. *Clin Genet*. 2007 Sep;72(3):255-60.
21. Chakrabarti S, Devi KR, Komatireddy S, Kaur K, Parikh RS, Mandal AK et al. Glaucoma-associated *CYP1B1* mutations share similar haplotype backgrounds in POAG and PACG phenotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Dec;48(12):5439-44.
22. Bayat B, Yazdani S, Alavi A, Chiani M, Chitsazian F, Tusi BK et al. Contributions of *MYOC* and *CYP1B1* mutations to JOAG. *Mol Vis*. 2008 Mar 13;14:508-17.
23. Bhattacharjee A, Banerjee D, Mookherjee S, Acharya M, Banerjee A, Ray A, et al. Leu432Val polymorphism in *CYP1B1* as a susceptible factor towards predisposition to primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*. 2008 May 8;14:841-50.
24. Burdon KP, Hewitt AW, Mackey DA, Mitchell P, Craig JE. Tag SNPs detect association of the *CYP1B1* gene with primary open angle glaucoma. *Mol Vis*. 2010 Nov 4;16:2286-93.
25. Patel HY, Richards AJ, De Karolyi B, Best SJ, Danesh-Meyer HV, Vincent AL. Screening glaucoma genes in adult glaucoma suggests a multiallelic contribution of *CYP1B1* to open-angle glaucoma phenotypes. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012 May-Jun;40(4):208-17.
26. Gong B, Qu C, Li X, Shi Y, Lin Y, Zhou Y et al. Mutation spectrum of *CYP1B1* in Chinese patients with primary open-angle glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2015 Mar;99(3):425-30.
27. Do T, Shei W, Chau PT, Trang DL, Yong VH, Ng XY et al. *CYP1B1* and *MYOC* Mutations in Vietnamese Primary Congenital Glaucoma Patients. *J Glaucoma*. 2016 May;25(5):e491-8.
28. Kaur A, Vanita V, Singh J. Screening of *CYP1B1* Arg368His as predominant mutation in North Indian primary open angle glaucoma and juvenile onset glaucoma patients. *Mol Biol Res Commun*. 2018 Dec;7(4):181–186.
29. Svidnicki PV, Brahini CA, Costa VP, Schimiti RB, de Vasconcellos JP, de Melo MB. Occurrence of *MYOC* and *CYP1B1* variants in juvenile open

angle glaucoma Brazilian patients. *Ophthalmic Genet.* 2018 Dec;39(6):717-724.

30. Song N, Leng L, Yang XJ, Zhang YQ, Tang C, Chen WS et al. Compound heterozygous mutations in *CYP1B1* gene leads to severe primary congenital glaucoma phenotype. *Int J Ophthalmol.* 2019;12(6):909–914.