



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE  
ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA  
“FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA”**

**“IDENTIFICACIÓN DE FRECUENCIAS POBLACIONALES  
DE VARIANTES GENÉTICAS DE RIESGO PARA  
RETINOPATÍA DIABÉTICA”**

**TESIS DE  
POSGRADO  
PARA OBTENER EL DIPLOMADO  
DE ESPECIALIDAD EN  
OFTALMOLOGÍA  
QUE PRESENTA**

**DRA. MARÍA CAMILA DEL CASTILLO  
ROSAS**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. JUAN CARLOS ZENTENO RUIZ**

**MÉXICO, CD. MEX., 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

---

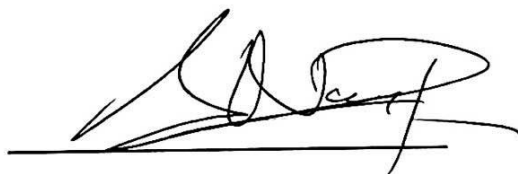
Dr. Enrique Graue Wiechers.

**Profesor Titular del Curso.**



Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz.

**Director de Tesis.**



Dr. Alejandro Navas Pérez.

**Jefe de Enseñanza**



Instituto de Optimización  
"Fundación de Estudios Positivos Centro de Investigación 100-10"



**Jefatura de Enseñanza**  
Chimalpopocate 14, Colonia Obrera  
Ciudad de México

## CESION DE DERECHOS

En la ciudad de México D. F., el día 14 del mes de Octubre del año 2021, el (la) que suscribe Dr. (a) María Camila del Castillo Rosas, alumno (a) del Programa de (Oftalmología o Alta Especialidad del Posgrado) de la Facultad de Medicina, sede académica Instituto Fundación de Asistencia Privada "Conde de Valenciana" I.A.P, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del (de la) Dr. (a) Juan Carlos Zenteno Ruíz (Tutor) y cede los derechos del trabajo intitulado "IDENTIFICACIÓN DE FRECUENCIAS POBLACIONALES DE VARIANTES GENÉTICAS DE RIESGO PARA RETINOPATÍA DIABÉTICA", a la Universidad Nacional Autónoma de México para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben de reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del director del trabajo bajo reserva de contravenir tácitamente a la ley Federal de derechos y protección del autor. El permiso puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección electrónica [iczenteno@institutodeoftalmologia.org](mailto:iczenteno@institutodeoftalmologia.org) (el del asesor). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y cita la fuente del mismo

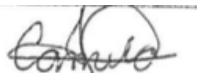


---

Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz.

Jefe del departamento de Investigación

Instituto de Oftalmología F.A.P.  
"Conde de Valenciana"



---

Dra. María Camila del Castillo Rosas

Especialidad en Oftalmología  
Instituto de Oftalmología F.A.P.  
"Conde de Valenciana"

## Tabla de contenido

1. Resumen.....	5
2. Introducción.....	6
3. Planteamiento del problema.....	13
4. Pregunta de investigación .....	13
5. Justificación.....	14
6. Hipótesis .....	14
7. Objetivo general .....	14
8. Diseño del estudio.....	14
9. Material y Métodos.....	14
10. Cronograma de actividades.....	16
11. Aspectos éticos.....	16
12. Aspectos de bioseguridad .....	16
13. Financiamiento de la investigación .....	16
14. Declaración de conflicto de interés de los investigadores .....	16
15. Resultados.....	17
16. Discusión .....	23
17. Conclusión.....	23
18. Bibliografía.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

# "IDENTIFICACIÓN DE FRECUENCIAS POBLACIONALES DE VARIANTES GENÉTICAS DE RIESGO PARA RETINOPATÍA DIABÉTICA"

Dra. María Camila del Castillo Rosas, Dr. Juan Carlos Zenteno Ruíz

Instituto de Oftalmología Fundación "Conde de Valenciana" I.A.P

## 1. Resumen

Objetivo: Identificar en un grupo de 400 individuos mexicanos de frecuencia alélica de un grupo de 20 variantes genéticas asociadas a riesgo de retinopatía diabética.

Materiales y Métodos: Revisión bibliográfica de variantes genéticas asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética, publicada entre 2006 y 2020, para posteriormente evaluar la frecuencia alélica de un grupo de 20 variantes genéticas asociadas a riesgo de retinopatía diabética.

Resultados: Las frecuencias alélicas de las variantes mostraron diferencias con las descritas en bases de datos poblacionales, principalmente GnomAD. Las dos variantes con mayor variación respecto a bases de datos poblacionales fueron rs2070600 (p.Gly82Ser) en el gen AGER y rs116076202 c.690+2T>C (splicing) en el gen TMEM217.

Conclusión: Las frecuencias alélicas y genotípicas de las 20 variantes previamente asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética fueron identificadas en los datos de secuenciación de exoma de un grupo de 400 sujetos mexicanos. Los resultados de esta investigación son de trascendencia para la planeación de estudios de asociación de casos y controles, para la identificación de riesgo de retinopatía diabética en población mexicana. El análisis de los datos de secuenciación de exoma es un abordaje adecuado para la comparación de frecuencias alélicas poblacionales de variantes codificantes. Sin embargo, la comparación de frecuencias alélicas de variantes situadas en regiones no codificantes (intrones, promotores) debe realizarse con abordajes distintos a secuenciación de exoma.

## **2. Introducción**

### **DIABETES MELLITUS**

El término diabetes mellitus describe a un grupo de enfermedades metabólicas crónicas caracterizadas por un estado de hiperglucemia persistente originados por defectos en la secreción y/o en el efecto de la insulina (American Diabetes Association, 2014). La diabetes mellitus es una enfermedad compleja, determinada por factores ambientales y genéticos, en la que el sujeto afectado presenta alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, junto con una relativa o absoluta deficiencia en la secreción de insulina y con grados variables de resistencia a ésta (Odegaard y cols. 2003; Gribble, 2005). La diabetes tipo 1 (DM1) y la diabetes tipo 2 (DM2), los subtipos más prevalentes, son enfermedades con amplia variabilidad tanto en su presentación clínica como en su progresión (Ndisang y cols. 2017). En la DM1 el defecto principal es la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas, que por lo general origina una deficiencia absoluta de insulina, mientras que en la DM2 es característica la pérdida progresiva de la secreción de insulina bajo un fondo de resistencia a la insulina (Punthakee y cols. 2018). La diabetes mellitus es una de las enfermedades crónicas y sistémicas más frecuentes y su importancia radica tanto en las complicaciones vasculares concomitantes como en los trastornos que origina en la calidad de vida de los pacientes.

La DM2 es la forma más prevalente (representa el 90% de todos los tipos de diabetes) y su riesgo de desarrollo aumenta con la edad, la obesidad y el sedentarismo (Bellou y cols. 2018). La afectación multiorgánica e interrelacionada de la DM2 la define como una enfermedad sistémica de elevada morbilidad y mortalidad. Los criterios diagnósticos actuales de la enfermedad, de acuerdo a la Academia Americana de Diabetes, son hemoglobina glucosilada HbA1c  $\geq 6,5\%$ , o una glucemia basal en ayunas (GB)  $\geq 126$  mg/dl, o bien una glucemia  $\geq 200$  mg/dl a las 2 horas de una prueba de tolerancia oral a la glucosa con 75 gr de glucosa.

La diabetes mellitus es considerada uno de los principales problemas de salud global. Para el año 2014 alrededor de 442 millones de personas en todo el mundo padecían diabetes mellitus y se estima que se alcancen los 592 millones de enfermos en el año

2035 (Guariguata y cols. 2014). Tan sólo en 2013, la diabetes mellitus causó 5.1 millones de muertes y se calcula que cada 6 segundos muere una persona en el mundo por complicaciones de la enfermedad. Para el año 2035 el número de personas con diabetes mellitus en el centro y sur de América se incrementará en 60% de acuerdo a la Federación internacional de Diabetes (<http://www.diabetesatlas.org/component/attachments/?task=download&id=78>). En México, la diabetes representa un serio problema de salud pública, ya que nuestro país se encuentra dentro de los 10 países con mayor número de personas viviendo con diabetes. De acuerdo al INEGI y a la Federación Mexicana de Diabetes, A.C, en el 2012, 6.4 millones de personas habían sido diagnosticadas con diabetes, con las tasas más altas de prevalencia en la Ciudad de México, Nuevo León, Veracruz, Tamaulipas, Durango y San Luis Potosí. Los datos de la Encuesta Nacional de Salud 2000 (Ensa 2000), así como de las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición 2006 y 2012 (Ensanut 2006 y 2012), muestran que la diabetes mellitus por diagnóstico médico previo (excluyendo las personas que desconocían estar enfermas) aumentó de 5.8% en la Ensanut 2000 a 7.0% en la Ensanut 2006 y a 9.2% en la Ensanut 2012 (Olaiz y cols. 2003, 2007; Gutiérrez y cols. 2013). Para 2016, la prevalencia continuó aumentando y se situó en 9.6%. Esto significa que para 2019, al menos 12 millones de personas en nuestro país presentan un diagnóstico confirmado de diabetes mellitus. Con base en estos datos, se ha estimado que para 2030, dicha prevalencia alcanzaría de 12 a 18%, y para 2050, de 14 a 22% (Rojas-Martínez y cols. 2018). El aumento en la prevalencia de diabetes puede deberse al envejecimiento de la población, al incremento en la prevalencia de la obesidad relacionada con cambios en los estilos de vida (aumento en la densidad calórica de la dieta, reducción en la actividad física), así como a cambios en otros factores relacionados con la diabetes (Rojas-Martínez y cols. 2018).

La diabetes mellitus es una enfermedad de origen complejo en la que diversos factores ambientales interaccionan con factores genéticos para producir un fenotipo hiperglicémico crónico. Es bien sabido que los principales factores de riesgo para la diabetes son la edad (a mayor edad se incrementa el riesgo), el sobrepeso y la obesidad, los antecedentes familiares de primer grado, el sedentarismo y el pertenecer a un grupo étnico de alto riesgo (Wu y cols. 2014; Bellou y cols. 2018). Otros factores de riesgo son



la hipertensión arterial, la hipertrigliceridemia (>250 mg/dL) y los niveles séricos bajos de colesterol de alta densidad (HDL <35 mg/dL). Debido a su alto costo de atención, el estudio sistematizado de los factores de riesgo, tratamiento y complicaciones es de suma importancia para reducir la carga social y económica de la diabetes mellitus.

## **COMPLICACIONES MICROVASCULARES DE LA DIABETES MELLITUS**

Existen numerosas y graves complicaciones de la DM2 que son la causa de su elevada morbimortalidad, sobre todo debidas a enfermedades cardiovasculares. La evolución de la diabetes se caracteriza por afectación vascular gradual y progresiva, tanto de pequeños vasos (microangiopatía) como de grandes vasos (macroangiopatía); los órganos diana para la microangiopatía son la retina, el glomérulo renal y el sistema nervioso periférico, mientras que los efectos macroangiopáticos se presentan en el sistema cardiovascular, el sistema nervioso central (SNC) y la vasculatura periférica (Sheetz y cols. 2002; Parving y cols. 2005).

Los diabéticos tienen una mortalidad por enfermedad cardiovascular dos a cuatro veces mayor que los sujetos no diabéticos de la misma edad. La cardiopatía isquémica se presenta entre 7.5 y 20% de las personas con diabetes mayores de 45 años de edad y se considera que del 50 a 75% de las muertes en los diabéticos se deben a cardiopatía isquémica (Aguilar-Salinas y cols. 2005; Rojas-Martínez y cols. 2018). En México, 7% de los pacientes con diabetes pueden tener isquemia miocárdica silente, la cual se incrementa con la edad y con el tiempo de duración de la diabetes (Escobedo, 2009, 2011). La diabetes tipo 2 es una de las principales causas de ceguera, de insuficiencia renal crónica y de amputaciones no traumáticas en nuestro país y es una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos (Rull y cols. 2005). Las complicaciones como la nefropatía y la retinopatía continúan siendo las responsables más frecuentes de la morbilidad asociada a diabetes mellitus tipo 2.

El costo económico para los servicios de salud por las complicaciones asociadas a la diabetes mellitus es enorme y continúa creciendo. En un estudio publicado en 2018 se estimaron los costos hospitalarios de la atención a pacientes con diabetes mellitus en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) entre 2008 y 2013 y se estableció un costo de 1563 millones de dólares (Salas-Zapata y cols. 2018). Por su parte, la Federación

Mexicana de Diabetes ha establecido que la atención de la enfermedad y sus complicaciones representa un gasto de 3,430 millones de dólares al año en nuestro país. Por otra parte, la diabetes es la primera causa de años vividos con baja calidad y la principal causa de incapacidad laboral

## **RETINOPATÍA DIABÉTICA**

La retinopatía diabética es una complicación neovascular altamente específica de ambos tipos de diabetes (1 y 2) y su prevalencia se correlaciona fuertemente tanto con la duración de la diabetes como con el nivel de control glicémico. La retinopatía diabética se debe a cambios crónicos en la vasculatura retiniana causados por los niveles persistentemente elevados de glucosa en la sangre y a la disfunción resultante de la barrera hemato-retiniana (Heng y cols. 2013). Las manifestaciones de la retinopatía diabética incluyen microaneurismas, hemorragias, exudados, edema, oclusión vascular y neovascularización (Roy y cols. 2017)

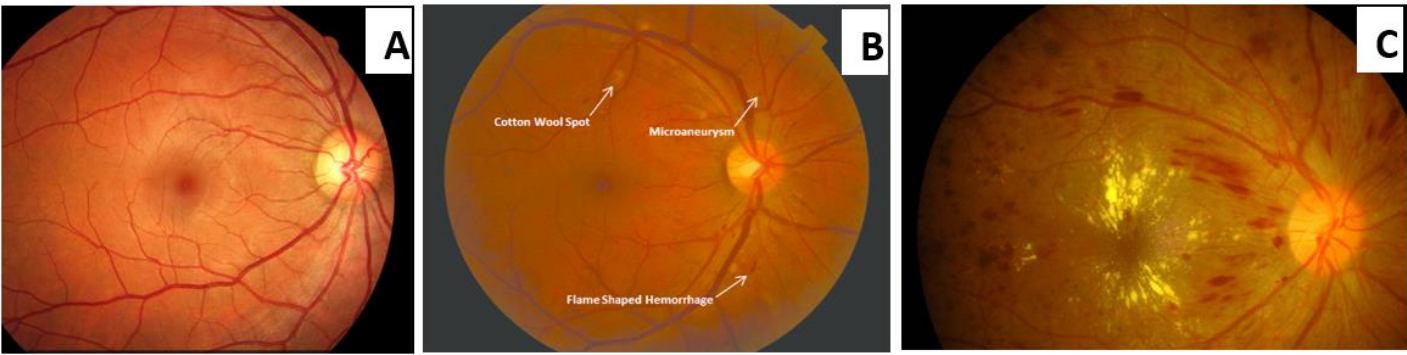
La retinopatía diabética se encuentra dentro de las principales causas de daño visual y ceguera en todo el mundo y en 2015 fue la séptima causa más frecuente de ceguera mundial (Lee y cols. 2015). En el hemisferio occidental, la retinopatía diabética es la causa más común de ceguera en población en edad productiva; la Organización Mundial de la Salud ha estimado que cada año se diagnostican 5800 casos nuevos de ceguera legal por esta causa, lo que corresponde al 5% de los 37 millones de ciegos en el mundo (Resnokoff y cols. 2004). Más del 75% de los diabéticos con más de 20 años de evolución, tiene alguna forma de retinopatía según el estudio epidemiológico de Wisconsin, que también demostró que 13% de los diabéticos con 5 años de evolución tienen algún grado de retinopatía, que aumenta a 90% en sujeto con 15 años de evolución, cuando la diabetes se diagnostica antes de los 30 años de edad y a 84% cuando se diagnostica después de los 30 años de edad (Klein y cols. 1984a; 1984b). Aproximadamente un tercio de los sujetos diabéticos tienen datos clínicos de retinopatía diabética y al menos uno en 10 se encuentra en estadios de discapacidad visual como edema macular diabético y retinopatía proliferativa (Yau y cols. 2012). La patogenia de la retinopatía diabética es compleja y se han identificado factores de riesgo asociados como mal control glicémico, mayor duración de la diabetes, hipertensión, dislipidemia y albuminuria (Fu y cols. 2010;

Doria, 2010).

De acuerdo al ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*) la retinopatía diabética se puede clasificar en una etapa temprana o retinopatía diabética no proliferativa (RDNP) y una más avanzada o retinopatía diabética proliferativa (RDP). La RDNP se subdivide a su vez en leve, moderada y severa, mientras que la RDP se subdivide en temprana, de alto riesgo y avanzada (Wu y cols. 2013).

Los cambios característicos en la retinopatía no proliferativa en el examen oftalmoscópico (**Figura 1B**) incluyen microaneurismas, hemorragias intraretinales, edema retinal, exudados céreos o lipídicos, dilataciones venosas, anomalías intraretinales microvasculares, lesiones algodinosas, anomalías arteriolas y áreas de cierre capilar (Wong y cols. 2018). Según el ETDRS, los pacientes con RDNP severa tienen un 15% de posibilidades de progresar a RDP de alto riesgo en un año y los que padecen RDNP muy severa tienen un 45% de posibilidades de progresar a RDP de alto riesgo en un año.

La isquemia progresiva que se produce en la retinopatía diabética, debido al cierre capilar, tiene como consecuencia el aumento de la expresión del VEGF y la formación de vasos retinianos nuevos o neovasos. La aparición de estos neovasos es lo que define a la retinopatía diabética proliferativa (**Figura 1C**). La progresión de la neovascularización aumenta el riesgo de hemorragias prerretinales o vítreas. En etapas más avanzadas, esta proliferación fibrovascular, que se ha anclado en el humor vítreo, puede traccionar la retina produciendo un desprendimiento de retina traccional, o romperla en los puntos de adherencia a ésta (desgarro retinal), ocasionando un desprendimiento de retina regmatógeno. La RDP evoluciona en tres etapas de menor a mayor severidad: temprana, de alto riesgo y avanzada, que se definen por la ubicación y extensión de los neovasos, la presencia o ausencia de hemorragia vítrea y la presencia o ausencia de desprendimiento de retina con compromiso foveal (Duh y cols. 2017).



**Figura 1.- (A)** Apariencia fundoscópica de retina normal; **(B)** Retinopatía diabética no proliferativa caracterizada por microaneurismas, microhemorragias y manchas algodonosas; **(C)** Retinopatía diabética proliferativa grave caracterizada por neovasos, aneurismas, hemorragias y exudados.

## GENÉTICA DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA

En algunos grupos poblacionales, las tendencias en incidencia y prevalencia de la retinopatía diabética no pueden explicarse por factores ambientales o socioeconómicos, como en el caso de la prevalencia anormalmente elevada de retinopatía diabética en la zona rural de China o la alta proporción de retinopatía avanzada en Oriente medio (Wang y cols. 2009; El Bab y cols. 2012). Además, ciertos grupos de pacientes exhiben predisposición a retinopatía severa aún con adecuado control glucémico, mientras que otros no desarrollan la complicación a pesar de tener poco control glucémico y larga duración de la diabetes (Patel y cols. 2008). Estos datos y otras líneas de evidencias demuestran claramente que existen influencias genéticas en el desarrollo de la retinopatía diabética. Estudios en gemelos tanto con DM tipo 1 como tipo 2 han demostrado una alta concordancia para la enfermedad (Pyke y cols. 1973; Leslie y cols. 1982). Por otra parte, los familiares de sujetos con DM tienen un riesgo 2 a 3 veces mayor de desarrollar la enfermedad que los individuos sin familiares diabéticos (Patel y cols. 2008). La contribución genética se ha calculado de 27% para la retinopatía diabética no proliferativa, con un aumento considerable a 52% para la retinopatía diabética proliferativa (Arar y cols. 2008; Hietala y cols. 2008). Como se mencionó previamente, la elevada frecuencia de retinopatía diabética en ciertos grupos étnicos apoya la

participación de factores genéticos específicos en la etiología de tal complicación diabética (Sivaprasad y cols. 2012; Tan y cols. 2018).

En años recientes se ha desarrollado un gran volumen de investigación enfocada a identificar los determinantes genéticos de la retinopatía diabética ya que se considera que el reconocimiento de estos factores no solo impactaría en tratamientos más racionales de la enfermedad, sino que permitiría contar con biomarcadores que identifiquen de manera precoza grupos de sujetos con riesgo elevado de desarrollar esta grave complicación. De este modo, los abordajes de estudio genético han empleado análisis de ligamiento, estudios de gen candidato, estudios de asociación de genoma completo (GWAS) y más recientemente, análisis de secuenciación masiva de DNA, también conocida como secuenciación de siguiente generación (Ahlqvist y cols. 2015; Mishra y cols. 2016; Priščáková y cols. 2016; Dahlström y cols. 2017; Han y cols. 2019). Debido a que se trata de una enfermedad compleja, la mayoría de estudios realizados son del tipo de casos-contróles, con el fin de identificar variantes génicas específicas que confieran riesgo para el desarrollo de la retinopatía diabética. Sin embargo, a pesar de que se ha logrado la identificación de numerosas variantes de riesgo para la retinopatía diabética, estos resultados no han podido ser replicados cuando se investigan en grupos étnicos distintos, lo que indica la complejidad de la genética de la retinopatía diabética y apoya la existencia de variantes de riesgo para retinopatía diabética que son específicas de grupos étnicos. Por ejemplo, varios grupos han analizado variantes en genes como *VEGF* (factor de crecimiento endotelial vascular), *ALR* (reductasa de aldolasa), *RAGE* (receptor para productos finales de glicación avanzada) y genes del sistema renina-angiotensina (Priščáková y cols. 2016; Abhary y cols. 2009; Yu y Cols. 2016; Rahimi y cols. 2014). En un meta-análisis publicado en 2014 se identificó que, de 14 variantes estudiadas en estos genes, solo el polimorfismo de nucleótido único (SNP) rs2010963 (-634G>C) en *VEGF* presentó asociación estadística con retinopatía diabética (no proliferativa) (Kuo y cols. 2014). Esta variante ha sido una de las más estudiadas por su posible asociación con retinopatía diabética, sin embargo, de cuatro meta-análisis publicados después de 2014, en 3 no se identificó asociación genética de tal variante con algún tipo de retinopatía diabética (Han y cols. 2019). De manera similar, a pesar de que a la fecha se han identificado docenas de variantes, principalmente de nucleótido único, que presentan

asociación con el desarrollo de retinopatía diabética en alguna población particular (ver Anexo 1), ninguna de ellas ha mostrado replicación cuando se analiza en otros grupos étnicos.

La falta de replicación de asociaciones de riesgo para retinopatía diabética probablemente se deba a que las variantes son específicas de poblaciones y a las diferencias en los tamaños de muestra analizados (Abhary y cols. 2009; Sharma y Cols. 2019). Importantly, las diferencias en los fenotipos de retinopatía incluidos en las diversas investigaciones, puede también constituir un sesgo en los estudios de casos y controles. Por esta razón, un abordaje recomendado recientemente es la inclusión de fenotipos extremos, es decir constituir el grupo de casos con pacientes que muestren las formas más graves y avanzadas de retinopatía (Cho y cols. 2014; Kuo y cols. 2014; Sharma y cols. 2019).

Por otra parte, aun cuando se identifiquen variantes que presenten asociación genética con el rasgo de desarrollo de retinopatía diabética, el análisis de la expresión de los genes con tales variantes no puede realizarse en tejido retiniano humano, lo que limita la posibilidad de caracterizar los mecanismos fisiopatogénicos causantes de retinopatía diabética.

### **3. Planteamiento del problema**

La retinopatía diabética es una complicación grave de la diabetes mellitus y una de las causas más frecuentes de ceguera en individuos en edad productiva. A pesar de ser un fenotipo con clara influencias genéticas, los determinantes moleculares de la enfermedad aún permanecen desconocidos debido principalmente a la falta de replicación de variantes de riesgo asociadas en ciertas poblaciones. En población mexicana no se han realizado estudios de asociación genética dirigidos a identificar variantes que confieran riesgo para el desarrollo de retinopatía diabética.

### **4. Pregunta de investigación**

¿Cuál es la frecuencia alélica en una muestra de población mexicana de un grupo de 20 variantes genéticas asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética?

## **5. Justificación**

En población mexicana no se han realizado estudios de asociación genética dirigidos a identificar variantes que confieran riesgo para el desarrollo de retinopatía diabética. A pesar de ser un fenotipo con clara influencias genéticas. La retinopatía diabética es una complicación grave de la diabetes mellitus y una de las causas más frecuentes de ceguera en individuos en edad productiva por lo cual resulta indispensable estudiar mas a fondo sus asociaciones genéticas.

## **6. Hipótesis**

La frecuencia alélica en población mexicana de variantes asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética presentará diferencias con la descrita en otros grupos étnicos.

## **7. Objetivo general**

1.- Identificar en un grupo de 400 individuos mexicanos de frecuencia alélica de un grupo de 20 variantes genéticas asociadas a riesgo de retinopatía diabética.

## **8. Diseño del estudio**

Estudio transversal, revisión bibliográfica de variantes genéticas asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética, publicada entre 2006 y 2020, para posteriormente evaluar la frecuencia alélica de un grupo de 20 variantes genéticas asociadas a riesgo de retinopatía diabética.

## **9. Material y Métodos**

Este estudio se realizo de acuerdo a la declaración de Helsinki, aprobado por el comité de ética de investigación clínica institucional.

Se realizó una búsqueda bibliográfica de variantes genéticas asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética, publicada entre 2006 y 2020. La estrategia de búsqueda incluyó los términos “diabetic retinopathy and SNPs”, “Diabetic retinopathy and whole exome sequencing”, “diabetic retinopathy and coding SNPs” y “diabetic retinopathy and non-synonymous SNPs”. Se seleccionaron las 20 variantes que mostraron mayor asociación (o replicación) entre los diversos estudios publicados.

Se realizó un análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas en un grupo de 400

individuos mexicanos (800 alelos) de entre 12 y 70 años de edad sin retinopatía diabética. El DNA de estos individuos fue analizado previamente a través de secuenciación de siguiente generación (secuenciación de exoma completo) con el propósito de diagnóstico de enfermedades monogénicas.

Los archivos correspondientes a la secuenciación de DNA de cada uno de los sujetos fue depositada en la plataforma bioinformática Franklin (<https://franklin.genoox.com/clinical-db/home>) y a partir de allí se identificaron las frecuencias alélicas de cada una de las 20 variantes de interés identificadas por la búsqueda bibliográfica previa. Se privilegió el análisis de secuencias codificantes, no sinónimas ya que son las variantes mejor representadas en los datos de secuenciación de exoma, a diferencia de las variantes intrónicas u otras no codificantes. Se caracterizó la frecuencia interna (grupo de 400 mexicanos) y se comparó con la frecuencia observada en otras bases de datos y poblaciones. Se determinó el número de sujetos homocigotos para cada variante específica.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas en un grupo de 400 individuos mexicanos (800 alelos) de entre 12 y 70 años de edad sin retinopatía diabética. El DNA de estos individuos fue analizado previamente a través de secuenciación de siguiente generación (secuenciación de exoma completo) con el propósito de diagnóstico de enfermedades monogénicas.

Los archivos correspondientes a la secuenciación de DNA de cada uno de los sujetos fue depositada en la plataforma bioinformática Franklin (<https://franklin.genoox.com/clinical-db/home>) y a partir de allí se identificaron las frecuencias alélicas de cada una de las 20 variantes de interés identificadas por la búsqueda bibliográfica previa.



## **10. Cronograma de actividades**

Noviembre 2020- Abril 2021: Revisión de la bibliografía.

Mayo- Junio 2021: identificación de las frecuencias alélicas de cada una de las 20 variantes de interés identificadas por la búsqueda bibliográfica previa.

Julio 2021: Análisis de los datos.

Agosto 2021: Resultados.

## **11. Aspectos éticos**

El estudio se condujo de acuerdo a los principios éticos de la declaración de Helsinki. Los investigadores se aseguraron de que, todo el personal involucrado en llevar a cabo este estudio, fuese calificado para realizar sus responsabilidades asignadas. Antes de comenzar este estudio, este protocolo fue aprobado por los comités locales de la institución.

## **12. Aspectos de bioseguridad**

No se utilizaron agentes biológicos así como ningún producto derivado de humanos, animales o microorganismos. No se expuso al paciente a ningún tipo de radiación.

## **13. Financiamiento de la investigación**

No requirió ningún tipo de financiamiento.

## **14. Declaración de conflicto de interés de los investigadores**

No Existe conflicto de interés con casas comerciales

## 15. Resultados

### SNPs asociados a desarrollo de retinopatía diabética.

SNP #	Número de acceso SNP	Gen	Efecto en la proteína	Referencia
1	rs11643718	SLC12A3	p.Arg904Gln	Kim et al. 2006
2	rs17611	C5	p.Val802Ile	Yang et al. 2016
3	Rs1051740	EPHX1	p.Tyr113His	Fleming et al. 2019
4	Rs7314976	HCAR2	p.Arg311Cys	Gambhir et al. 2012
5	Rs5882	CETP	p.Val422Leu	Huang et al. 2019
6	rs6136	SELP	p.Thr756Pro	Liew et al. 2009
7	rs2269067	C5	p.Thr756Pro	Xu et al. 2016
8	rs1799969	ICAM1	p.Gly241Arg	Xie et al. 2018
9	rs2070600	AGER	p.Gly82Ser	Fan et al. 2020
10	rs759853	AKR1B1	Región Promotora	Cao et al. 2018
11	rs138325963	VEGFB	p.Arg148His	Chen et al. 2016
12	rs116076202	TMEM217	c.690+2T>C (splicing)	Lin et al. 2013
13	rs11890	NME3	p.Val94Val	Liu et al. 2019
14	rs2288648	FASTK	p.Ala436Val	Liu et al. 2019
15	rs652438	MMP12	p.Asn356Ser	Kure et al. 2011
16	Rs5498	ICAM1	p.Lys469Glu	Xie et al. 2018
17	rs4986790	TLR4	p.Asp299Val	Singh et al. 2014

18	rs4880	SOD2	p.Val16Ala	Huang et al. 2017
19	rs5370	EDN1	p.Lys198Asn	Li et al. 2008
20	rs1799983	NOS3	p.Asp298Glu	El-Lebedy et al. 2018

**Frecuencias en 400 individuos (800 alelos) Mexicanos sin retinopatía diabética y su comparación con otras bases de datos.**

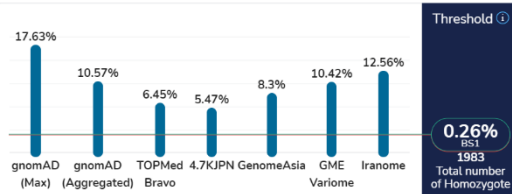
**1. Polimorfismo rs11643718**

Internal Frequency

**27.87%**  
Common variant in your Samples

**19**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



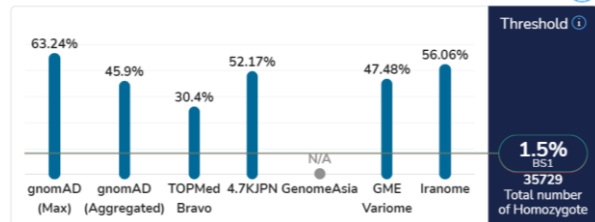
**2.- Polimorfismo rs17611**

Internal Frequency

**65.57%**  
Common variant in your Samples

**142**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



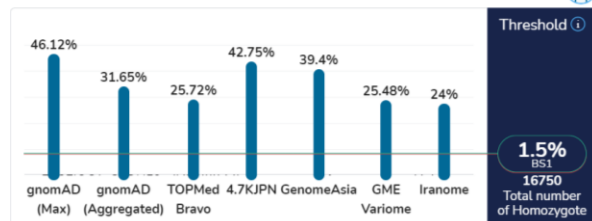
**3.- Polimorfismo Rs1051740**

**50.46%**

Common variant in your Samples

**67**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



#### 4.- Polimorfismo Rs7314976

##### Internal Frequency

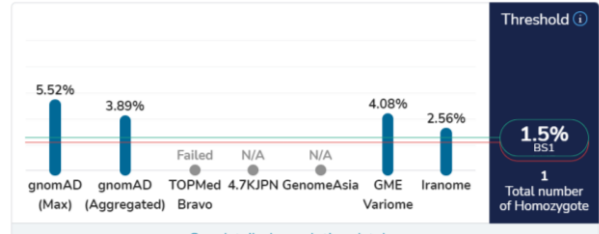
**12.39%**

Common variant in your Samples

0

Number of Homozygote

##### Population Frequencies



#### 5.- Polimorfismo rs5882

##### Internal Frequency

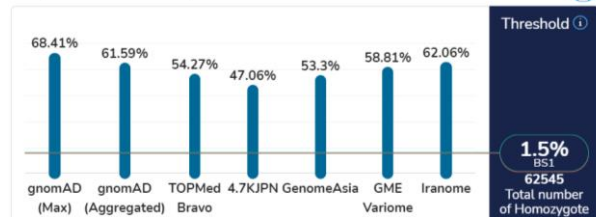
**73.04%**

Common variant in your Samples

178

Number of Homozygote

##### Population Frequencies



#### 6.- Polimorfismo rs6136

##### Internal Frequency

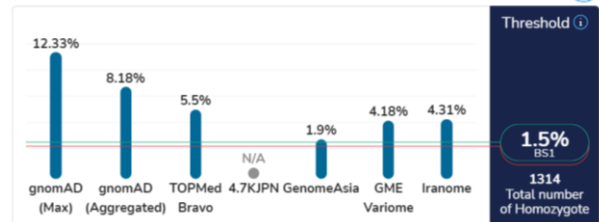
**12.93%**

Common variant in your Samples

4

Number of Homozygote

##### Population Frequencies



#### 7.- Polimorfismo rs2269067

##### Internal Frequency

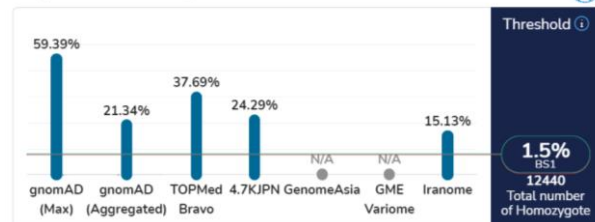
**18.58%**

Common variant in your Samples

6

Number of Homozygote

##### Population Frequencies



#### 8.- Polimorfismo rs1799969

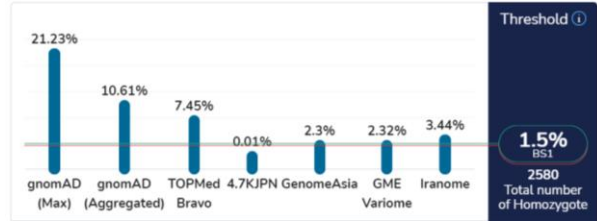
Internal Frequency

**34.97%**

Common variant in your Samples

17  
Number of  
Homozygote

Population Frequencies



9.- Polimorfismo rs2070600

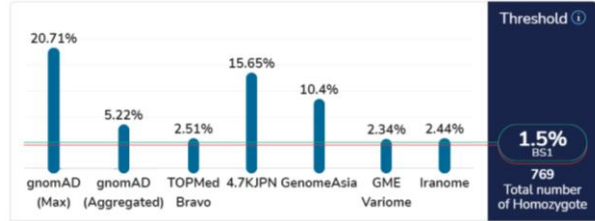
Internal Frequency

**0.55%**

Very Rare variant in your Samples

0  
Number of  
Homozygote

Population Frequencies



10.- Polimorfismo rs759853

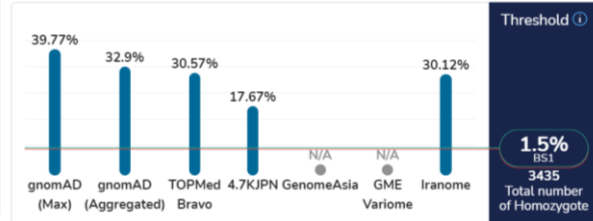
Internal Frequency

**29.14%**

Common variant in your Samples

31  
Number of  
Homozygote

Population Frequencies



11.- Polimorfismo rs138325963

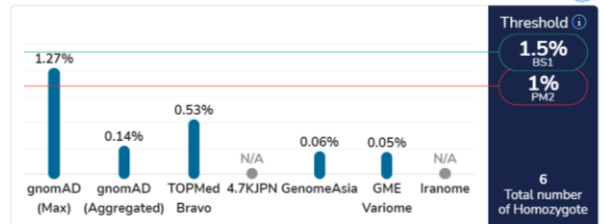
Internal Frequency

**0.55%**

Very Rare variant in your Samples

0  
Number of  
Homozygote

Population Frequencies

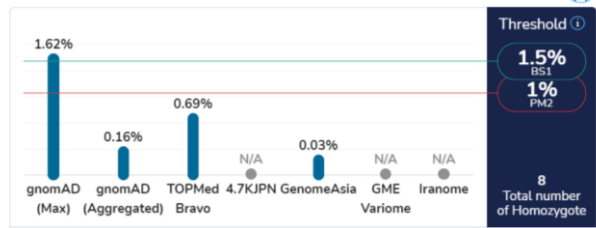


12.- Polimorfismo rs116076202

Internal Frequency



Population Frequencies

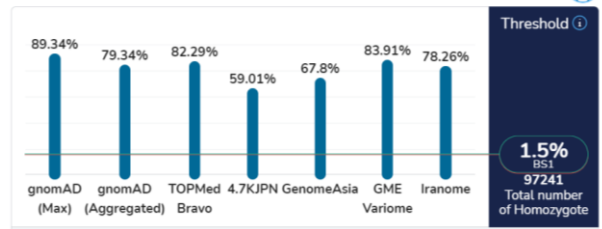


13.- Polimorfismo rs11890

Internal Frequency



Population Frequencies

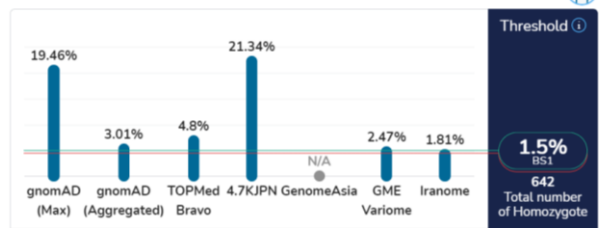


14.- Polimorfismo rs2288648

Internal Frequency



Population Frequencies

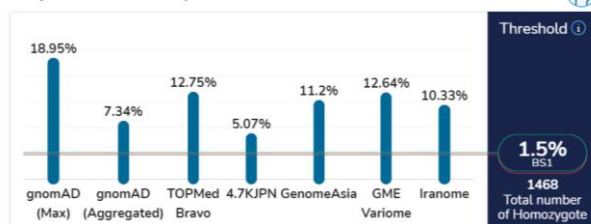


15.- Polimorfismo rs652438

Internal Frequency



Population Frequencies



16.- Polimorfismo rs5498

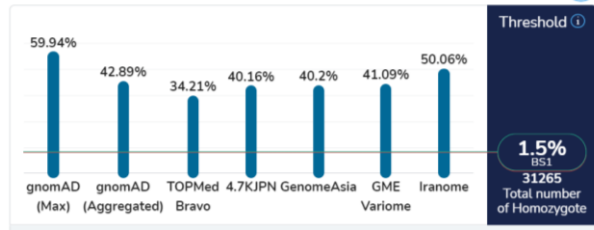
Internal Frequency

**73.04%**

Common variant in your Samples

**161**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



17.- Polimorfismo rs4986790

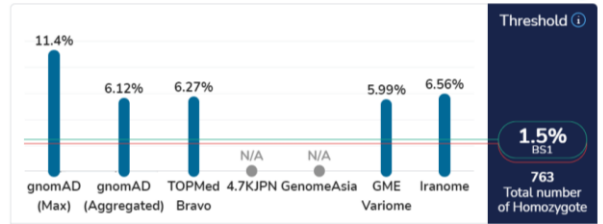
Internal Frequency

**5.1%**

Common variant in your Samples

**0**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



18.- Polimorfismo rs4880

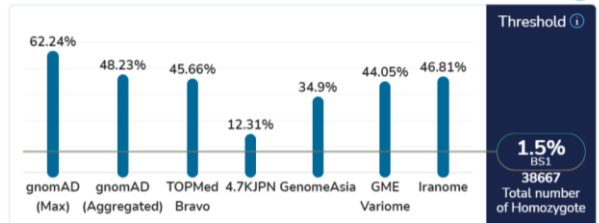
Internal Frequency

**69.95%**

Common variant in your Samples

**161**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



19.- Polimorfismo rs5370

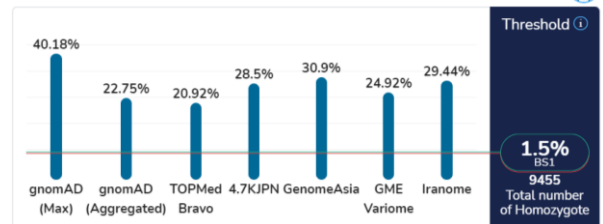
Internal Frequency

**20.95%**

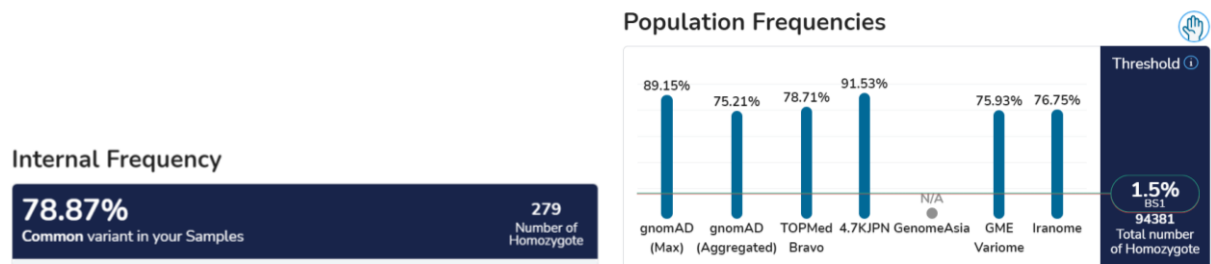
Common variant in your Samples

**12**  
Number of Homozygote

Population Frequencies



## 20.- Polimorfismo rs1799983



### 16. Discusión

A pesar de que se ha logrado la identificación de numerosas variantes de riesgo para la retinopatía diabética, estos resultados no han podido ser replicados cuando se investigan en grupos étnicos distintos, lo que indica la complejidad de la genética de la retinopatía diabética y apoya la existencia de variantes de riesgo para retinopatía diabética que son específicas de grupos étnicos.

La falta de replicación de asociaciones de riesgo para retinopatía diabética probablemente se deba a que las variantes son específicas de poblaciones y a las diferencias en los tamaños de muestra analizados. Debido a lo anteriormente mencionado los resultados de esta investigación son de trascendencia para la planeación posterior de estudios de asociación de casos y controles, para la identificación de riesgo de retinopatía diabética en población mexicana.

### 17. Conclusión

Las frecuencias alélicas y genotípicas de las 20 variantes previamente asociadas a riesgo de desarrollar retinopatía diabética fueron identificadas en los datos de secuenciación de exoma de un grupo de 400 sujetos mexicanos.

Las frecuencias alélicas de las variantes mostraron diferencias con las descritas en bases de datos poblacionales, principalmente GnomAD.

Las dos variantes con mayor variación respecto a bases de datos poblacionales fueron rs2070600 (p.Gly82Ser) en el gen AGER y rs116076202 c.690+2T>C (splicing) en el gen TMEM217.

Los resultados de esta investigación son de trascendencia para la planeación de estudios de asociación de casos y controles, para la identificación de riesgo de retinopatía diabética en población mexicana.

El análisis de los datos de secuenciación de exoma es un abordaje adecuado para la



comparación de frecuencias alélicas poblacionales de variantes codificantes.

Sin embargo, la comparación de frecuencias alélicas de variantes situadas en regiones no codificantes (intrones, promotores) debe realizarse con abordajes distintos a secuenciación de exoma.

## **18. Bibliografía**

### REFERENCIAS

Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2009;58(9):2137-4

Ahlqvist E, van Zuydam NR, Groop LC, McCarthy MI. The genetics of diabetic complications. *Nat Rev Nephrol*. 2015 May;11(5):277-87.

Aguilar-Salinas CA, Mehta R, Rojas R, Gómez-Pérez FJ, Olaiz G, Rull JA. Management of the metabolic syndrome as a strategy for preventing the macrovascular complications of type 2 diabetes: Controversial issues. *Curr Diabetes Rev* 2005;1(2):145-158

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37(Suppl 1):S81-90.

Arar NH, Freedman BI, Adler SG, Iyengar SK, Chew EY, Davis MD, et al. Heritability of the severity of diabetic retinopathy: the FIND-Eye study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(9):3839–45.

Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS One*. 2018 Mar 20;13(3):e0194127.

Cho H, Sobrin L. Genetics of diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2014;14(8):515.

Dahlström E, Sandholm N. Progress in Defining the Genetic Basis of Diabetic Complications. *Curr Diab Rep*. 2017 Sep;17(9):80.

Diabetes mellitus in twins: a cooperative study in Japan. Committee on Diabetic Twins, Japan Diabetes Society. *Diabetes Res Clin Pract*. 1988;5(4):271–80

Doria A. Genetics of diabetes complications. *Curr Diabetes Rep*. 2010;10:467–475.

Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies. *JCI Insight*. 2017;2(14), pii: 93751.

El Bab MF, Shawky N, Al Sisi A, Akhtar M. Retinopathy and risk factors in diabetic patients from Al Madinah Al Munawarah in the Kingdom of Saudi Arabia. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:269–76.

Escobedo J, Buitrón LV, Velasco MF, Ramírez JC, Hernández R et al., on behalf of the CARMELA Study Investigators: High prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in urban Latin America: the CARMELA Study. *Diabet Med* 2009;26:864–871.

Escobedo de la Peña J, Buitrón Granados LV, Ramírez Martínez J, Chavira Mejía R, Schargrotsky H et al.: Diabetes in Mexico. CARMELA Study. *Cir Ciruj* 2011;79:394–401.

ETDRS Research group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1. 1991 May; 98: 766 – 785.

Fu Y-P, Hallman DM, Gonzalez VH, et al. Identification of diabetic retinopathy genes through a genome-wide association study among Mexican-Americans from Starr County, Texas. *J Ophthalmol*. 2010;2010:861291.

Gribble FM. Metabolism: a higher power for insulin. *Nature*. 2005;434 (7036):965-6.

Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014 Feb;103(2):137-49.

Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados nacionales. 2da. edición. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2013

Han J, Lando L, Skowronska-Krawczyk D, Chao DL. Genetics of Diabetic Retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2019;19(9):67.

Heng LZ, Comyn O, Peto T, Tadros C, Ng E, Sivaprasad S, Hykin PG. Diabetic

retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments. *Diabet Med.* 2013 Jun;30(6):640-50.

Hietala K, Forsblom C, Summanen P, Groop PH, FinnDiane Study G. Heritability of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2008;57(8):2176–80.

Klein R et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Archives of Ophthalmology*, 1984, 102: 520 – 526.

Klein R et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Archives of Ophthalmology*, 1984, 102: 527 – 532.

Kuo JZ, Wong TY, Rotter JI. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(1):96-107.

Lee R, Wong TY, Sabanayagam C. Epidemiology of diabetic retinopathy, diabetic macular edema and related vision loss. *Eye Vis (Lond).* 2015 Sep 30;2:17.

Leslie RD, Pyke DA. Diabetic retinopathy in identical twins. *Diabetes.* 1982;31(1):19–21.

Mishra B, Swaroop A, Kandpal RP. Genetic components in diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol.* 2016;64(1):55-61.

Ndisang JF, Vannacci A, Rastogi S. Insulin Resistance, Type 1 and Type 2 Diabetes, and Related Complications. *J Diabetes Res.* 2017;2017:1478294.

Odegaard JI, Chawla A. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science.* 2013;339(6116):172-7.

Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T, Aguilar C, Cravioto P, et al. Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo 2: La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2003:99.

Olaiz G, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández M, Sepúlveda J (eds). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto

Nacional de Salud Pública, 2006.

Parving HH, Lewis JB, Ravid M, et al. Prevalence and risk factors for microalbuminuria in a referred cohort of type 2 diabetes population: the Pathways study. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:219-28

Patel S, Chen H, Tinkham NH, Zhang K. Genetic susceptibility of diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep.* 2008 Aug;8(4):257-62

Priščáková P, Minárik G, Repiská V. Candidate gene studies of diabetic retinopathy in human. *Mol Biol Rep.* 2016 Dec;43(12):1327-134

Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Can J Diabetes.* 2018 Apr;42 Suppl 1:S10-S15.

Pyke DA, Tattersall RB. Diabetic retinopathy in identical twins. *Diabetes.* 1973;22(8):613–8.

Rahimi Z, Moradi M, Nasri H. A systematic review of the role of renin angiotensin aldosterone system genes in diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic neuropathy. *J Res Med Sci.* 2014;19(11):1090-8

Resnokoff S et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the World Health Organization,* 2004, 82: 844 – 851.

Rojas-Martínez R, bastos-Abreu A, Aguilar-Salinas C, Barrientos T. Prevalence of previously diagnosed diabetes mellitus in Mexico. *Salud Publica de Mexico.* 2018, 60: 224-232.

Roy S, Kern TS, Song B, Stuebe C. Mechanistic Insights into Pathological Changes in the Diabetic Retina: Implications for Targeting Diabetic Retinopathy. *Am J Pathol.* 2017 Jan;187(1):9-19.

Rull JA, Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Ríos-Torres JM, Gómez-Pérez FJ, Olaiz G. Epidemiology of type 2 diabetes in Mexico. *Arch Med Res* 2005;36(3):188-196.

Salas-Zapata, Palacio-Mejía L, Aracena-Genao B, Hernández-Ávila J. Direct service costs of diabetes mellitus hospitalisations in the Mexican Institute of Social Security. *Gaceta Sanitaria*. 2018, 32, 209-215.

Sharma A, Valle ML, Beveridge C, Liu Y, Sharma S. Unraveling the role of genetics in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Eye (Lond)*. 2019 Apr;33(4):534-541

Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA*. 2002;288:2579-88.

Sivaprasad S, Gupta B, Crosby-Nwaobi R, Evans J. Prevalence of diabetic retinopathy in various ethnic groups: a worldwide perspective. *Surv Ophthalmol*. 2012;57(4):347-70.

Tan GS, Gan A, Sabanayagam C, Tham YC, Neelam K, Mitchell P, Wang JJ, Lamoureux EL, Cheng CY, Wong TY. Ethnic Differences in the Prevalence and Risk Factors of Diabetic Retinopathy: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases Study. *Ophthalmology*. 2018;125(4):529-536.

Wang FH, Liang YB, Zhang F, Wang JJ, Wei WB, Tao QS, Sun LP, Friedman DS, Wang NL, Wong TY. Prevalence of diabetic retinopathy in rural China: the Handan Eye Study. *Ophthalmology*. 2009 Mar;116(3):461-7.

Wong TY, Sun J, Kawasaki R, Ruamviboonsuk P, Gupta N, Lansingh VC, Maia M, Mathenge W, Moreker S, Muqit MMK, Resnikoff S, Verdaguer J, Zhao P, Ferris F, Aiello LP, Taylor HR. Guidelines on Diabetic Eye Care: The International Council of Ophthalmology Recommendations for Screening, Follow-up, Referral, and Treatment Based on Resource Settings. *Ophthalmology*. 2018;125(10):1608-1622.

Wu L, Fernandez-Loaiza P, Sauma J, Hernandez-Bogantes E, Masis M. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes*. 2013 Dec 15;4(6):290-4.

Wu Yanling, Yanping Ding, Yoshimasa Tanaka, Wen Zhang. Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *Int J Med Sci*. 2014; 11(11): 1185–1200

Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012; 35:556–564.

Yu W, Yang J, Sui W, Qu B, Huang P, Chen Y. Association of genetic variants in the receptor for advanced glycation end products gene with diabetic retinopathy: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(39):e4463

Kim JH, Shin HD, Park BL, Moon MK, Cho YM, Hwang YH, Oh KW, Kim SY, Lee HK, Ahn C, Park KS. SLC12A3 (solute carrier family 12 member [sodium/chloride] 3) polymorphisms are associated with end-stage renal disease in diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2006 Mar;55(3):843-8.

ang MM, Wang J, Ren H, Sun YD, Fan JJ, Teng Y, Li YB. Genetic Investigation of Complement Pathway Genes in Type 2 Diabetic Retinopathy: An Inflammatory Perspective. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:1313027.

Fleming I. New Lipid Mediators in Retinal Angiogenesis and Retinopathy. *Front Pharmacol*. 2019 Jul 5;10:739.

Gambhir D, Ananth S, Veeranan-Karmegam R, Elangovan S, Hester S, Jennings E, Offermanns S, Nussbaum JJ, Smith SB, Thangaraju M, Ganapathy V, Martin PM. GPR109A as an anti-inflammatory receptor in retinal pigment epithelial cells and its relevance to diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Apr 24;53(4):2208-17.

Huang YC, Chen SY, Liu SP, Lin JM, Lin HJ, Lei YJ, Chung YC, Chen YC, Wang YH, Liao WL, Tsai FJ. Cholesteryl Ester Transfer Protein Genetic Variants Associated with Risk for Type 2 Diabetes and Diabetic Kidney Disease in Taiwanese Population. *Genes (Basel)*. 2019 Oct 8;10(10):782.

Liew G, Klein R, Wong TY. The role of genetics in susceptibility to diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol Clin*. 2009;49(2):35-52.

Xu D, Yi H, Yu S, Li X, Qiao Y, Deng W. Association of Complement C5 Gene Polymorphisms with Proliferative Diabetic Retinopathy of Type 2 Diabetes in a Chinese Han Population. *PLoS One*. 2016 Mar 2;11(3):e0149704.

Xie Z, Liang H. Association between diabetic retinopathy in type 2 diabetes and the ICAM-1 rs5498 polymorphism: a meta-analysis of case-control studies. *BMC Ophthalmol*. 2018 Nov 12;18(1):297.

Fan WY, Gu H, Yang XF, She CY, Liu XP, Liu NP. Association of candidate gene polymorphisms with diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Int J Ophthalmol*. 2020;13(2):301-308.

Cao M, Tian Z, Zhang L, Liu R, Guan Q, Jiang J. Genetic association of AKR1B1 gene polymorphism rs759853 with diabetic retinopathy risk: A meta-analysis. *Gene*. 2018 Nov 15;676:73-78.

Chen CF, Liou SW, Wu HH, et al. Regulatory SNPs Alter the Gene Expression of Diabetic Retinopathy Associated Secretary Factors. *Int J Med Sci*. 2016;13(9):717-723.

Lin HJ, Huang YC, Lin JM, Wu JY, Chen LA, Tsai FJ. Association of genes on chromosome 6, GRIK2 , TMEM217 and TMEM63B (linked to MRPL14 ) with diabetic retinopathy. *Ophthalmologica*. 2013;229(1):54-60.

Kure M, Pezzolesi MG, Poznik GD, et al. Genetic variation in the matrix metalloproteinase genes and diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Mol Genet Metab*. 2011;103(1):60-65.

Singh K, Kant S, Singh VK, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. Toll-like receptor 4 polymorphisms and their haplotypes modulate the risk of developing diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Mol Vis*. 2014;20:704-713.

Huang L, Lyu J, Liu QP, Chen C, Wang T. MnSOD Val16Ala polymorphism associated with retinopathy risk in diabetes: a PRISMA-compliant Meta-analysis of case-control studies. *Int J Ophthalmol.* 2017;10(4):639-645.

Li H, Louey JW, Choy KW, et al. EDN1 Lys198Asn is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Mol Vis.* 2008;14:1698-1704.

EI-Lebedy D. Interaction between endothelial nitric oxide synthase rs1799983, cholesteryl ester-transfer protein rs708272 and angiotensin-like protein 8 rs2278426 gene variants highly elevates the risk of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2018 Jul 4;17(1):97.