



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN**

**Asociación entre polimorfismos rs2010963 y rs833069 de gen VEGF-A en pacientes con Edema Macular Diabético en población mexicana.**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

**PRESENTA:**

**DRA. GIOVANNA YARET MONTALVO DOMÍNGUEZ**

**DR. RAFAEL VELÁZQUEZ CRUZ**  
**PROGRAMA DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA**

**CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**“Asociación entre polimorfismos rs2010963 y rs833069 de gen VEGF-A en pacientes con Edema Macular Diabético en población mexicana.”**



---

**Dra. Giovanna Yaret Montalvo Domínguez**  
**Alumna de Maestría en Ciencias Médicas**



---

**Dr. Rafael Velázquez Cruz**  
**Tutor Principal**



---

**Dr. Alberto Hidalgo Bravo**  
**Encargado de la Entidad Académica**

## **Agradecimientos**

A mi niño hermoso y mi esposo, que son mi motor y mi fuerza

A mi papá y a mis hermanos, por ser siempre mi fortaleza y mis compañeros en aprender a ser fuertes y persistir siempre sin importar qué

A mis ángeles en el cielo, mami y mis niñas

A mi tutor, el Dr. Rafael por su apoyo incondicional

A la Dra. Margarita Valdés por su confianza y cariño

A CONAHCYT por el apoyo y confianza.

Todo es para ustedes.

## **Gracias**

“Entre las adversidades, yace la oportunidad”  
Jane Austen

## ÍNDICE

<b>1.-RESUMEN.....</b>	<b>5</b>
<b>2.-MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES.....</b>	<b>6</b>
<b>3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>7.- DISEÑO Y METODOLOGÍA.....</b>	<b>21</b>
<b>8.- POBLACIÓN MUESTRA.....</b>	<b>23</b>
<b>9.-DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES.....</b>	<b>24</b>
<b>10- GENOTIPIFICACIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>11- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>25</b>
<b>12.- DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS.....</b>	<b>26</b>
<b>13-CONSIDERACIONES ÉTICAS.....</b>	<b>26</b>
<b>14-RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>15-DISCUSIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>16-CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>17- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>37</b>
<b>18- ANEXOS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO 1 Consentimiento Informado.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO 2 Carta de aceptación.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO 3 Descripción de Procedimientos.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXO 4. Protocolo de extracción de ADN.....</b>	<b>51</b>

## 1.-RESUMEN

**Introducción:** El Edema Macular Diabético (EMD) es la principal causa de baja visual en los pacientes diabéticos, su presentación es variable y hay pocos estudios que describen la contribución genética que se presenta en algunas poblaciones, sin existir información descrita hasta el momento para población mexicana. **Objetivo:** Investigar si existe asociación entre dos variantes de un solo nucleótido (SNV) del gen del Factor del Crecimiento Vascular Endotelial (*VEGF-A*) y el edema macular diabético. **Diseño:** Se realizó un estudio de tipo casos y controles. **Materiales y métodos:** se incluyeron pacientes adultos con diagnóstico de Diabetes tipo 2 (DM2), >10 años, del servicio de Retina y Vítreo del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra y que contaran con diagnóstico de retinopatía diabética proliferativa en el periodo de octubre 2021 a abril 2023. Se calculó el Equilibrio de Hardy-Weinberg comparando los valores de chi cuadrada entre los valores esperados y observados. Se realizó la genotipificación de las variantes de un solo nucleótido (SNV) rs2010963 y rs833069 del gen del Factor del Crecimiento Vascular Endotelial (*VEGF-A*). Se realizaron modelos de regresión logística para cada tipo de herencia. **Principales Desenlaces:** Se encontró una asociación entre el SNV rs2010963 y el edema macular diabético (valor  $p = 0.039$ ). **Resultados:** Se obtuvieron un total de 183 pacientes, de los cuales 99 pacientes constituyeron al grupo de casos y 84 pacientes al grupo de controles. Ambos grupos presentaban retinopatía diabética proliferativa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características clínicas de los grupos estudiados. Mediante modelos de regresión logística, bajo el modelo recesivo y codominante se observó que existe asociación entre el SNV rs2010963 y el edema macular diabética en población mexicana ( $OR_{\text{recesivo}} 2.70$ , IC 1.02-6.83,  $p = 0.03$  y  $OR_{\text{codominante}} 2.80$  IC 1.05-7.44,  $p = 0.039$ , respectivamente). **Conclusiones:** Este es primer estudio en población mexicana que estudia el SNV del *VEGF-A* y el edema macular diabético. El principal hallazgo es que el SNV rs2010963 podría constituir un factor de riesgo genético para presentar edema macular diabético. Sin embargo, no observamos asociación entre el polimorfismo rs833069 del *VEGF-A* y el edema macular.

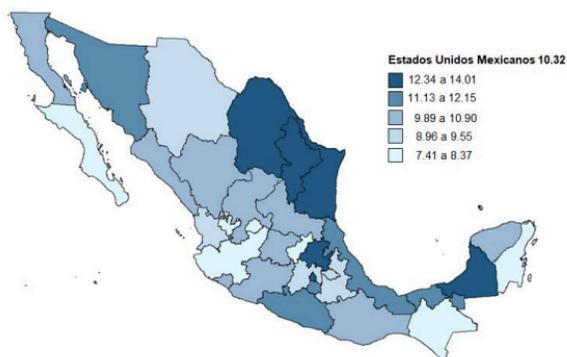
Palabras clave: edema macular, *VEGF-A*, variante de un solo nucleótido, asociación.

## 2.-MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica crónica, sistémica y multifactorial caracterizada por hiperglicemia, es decir un aumento de glucosa en sangre. Se asocia con una deficiencia parcial o absoluta del efecto y la producción pancreática de insulina. La hiperglicemia crónica genera daño en diferentes sistemas generando complicaciones como ceguera, insuficiencia renal, infarto al miocardio, accidentes cerebrovasculares, neuropatía y amputaciones de miembros inferiores <sup>1</sup>.

La prevalencia ha aumentado rápidamente a nivel mundial, principalmente en los países en vías del desarrollo. El número de personas con diabetes aumento 4 veces en 2014 llegando a 422 millones de personas con diabetes en el mundo y de acuerdo a los datos de la Organización Panamericana de la Salud, 62 millones de personas en las Américas. La prevalencia ha aumentado rápidamente en los países en vías del desarrollo, a nivel mundial se reporta una mortalidad del 4%. <sup>2</sup>

De acuerdo a los datos de ENSANUT 2022, se documentó la prevalencia de Diabetes Mellitus tipo 2 en 12.6% y un 5.8% de pacientes se les hizo el diagnóstico al momento de la encuesta lo que traduce un total de 18.3% de personas con Diabetes Mellitus tipo 2. De las personas diabéticas se reportó que sólo el 36% tenía un adecuado control glicémico definido como una hemoglobina glicosilada (HbA1c) menor de 7% <sup>3</sup>. En algunos estados de la república mexicana se reporta una prevalencia un poco mayor alrededor de 14% <sup>4</sup>



**Figura 1.** Prevalencia de DM2 en los diferentes estados de la República Mexicana, en donde se observa una mayor prevalencia en Campeche, Tamaulipas, Hidalgo, Ciudad de México y Nuevo León.

*\*Imagen de presentación oficial de Resultados ENSANUT 2018*

De acuerdo a los últimos reportes de ENSANUT la complicación más frecuente en pacientes con DM2 son las alteraciones oftalmológicas <sup>3,4</sup>, de ellas podemos mencionar alteraciones de la superficie, catarata, retinopatía diabética, edema macular diabético, neuropatía óptica.

La Retinopatía Diabética (RD) es la complicación más frecuente asociada en pacientes diabéticos y la principal causa de ceguera prevenible en México <sup>5,6</sup>, actualmente representa actualmente el tercer lugar en cuanto a costos directos producidos por complicaciones en población diabética <sup>2</sup>. El Edema Macular Diabético (EMD) es la principal causa de baja visual en pacientes con DM2 e implica una importante causa de incapacidad laboral y un elevado costo de los servicios de salud <sup>7,8</sup>.

En el estudio epidemiológico WISCONSIN la tasa de desarrollo de EMD fue de 29% y se describió que la prevalencia de EMD aumenta con la gravedad de la RD <sup>9</sup>, sin embargo a pesar de la mayor predisposición con mayor gravedad de RD, el EMD es una complicación que se evalúa por separado de las etapas de la RD, ya que se puede encontrar en cualquier grado de retinopatía diabética y puede seguir un curso independiente <sup>10</sup>.

En el estudio DCCT se describe que los factores ambientales más importantes, es decir los años de diagnóstico de DM2 y el mal control glicémico explican el 11% de la presentación de la RD y EMD <sup>11,12</sup>. Se describe que disminuir 1% de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) disminuye la progresión de la RD en un 30-40%. Otros factores identificados son la presencia de Hipertensión Arterial Sistémica (HAS) y dislipidemia <sup>13</sup> que explican el 10% del riesgo de RD <sup>9</sup> y que generan disfunción endotelial y disminuye disponibilidad de óxido nítrico <sup>10</sup>. Debido a la variabilidad de la presentación se sabe que existen otros factores que determinan la presentación y progresión del EMD <sup>12,14</sup>

Por otra parte, en el estudio Los ángeles Latino Eye Study (LALES), que estudio la prevalencia de RD y EMD en población mexicana mayor de 40 años que vive en Los Angeles mostró que la prevalencia global de RD fue de 46.9%, la de Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP) de 6.1% y de EMD fue del 10.4% <sup>10,15-17</sup>.

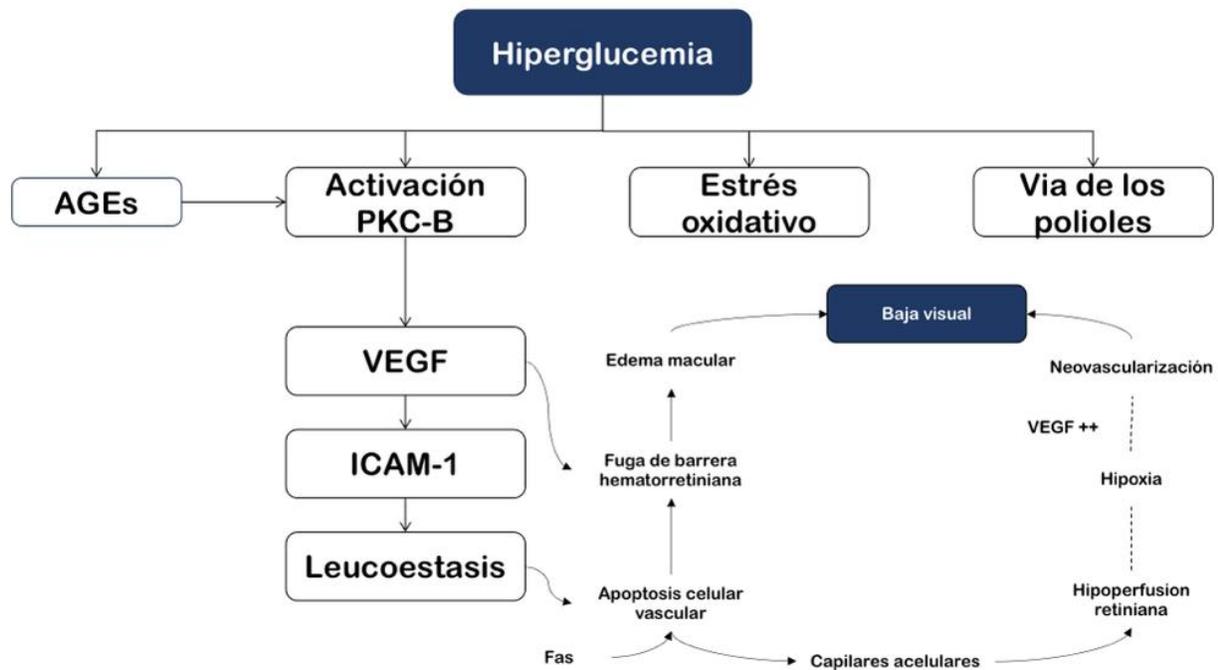
## **Fisiopatogenia EMD**

La fisiopatogenia del EMD es compleja e involucra múltiples vías biológicas como la vía del poliol, activación de proteína cinasa C, producción de productos de glicosilación avanzada y estrés oxidativo por acúmulo de radicales libres. La hiperglicemia crónica que existe en los pacientes diabéticos genera daño a nivel de las células gliales de forma primaria, generando daño posterior en la vasculatura retiniana.

Se sabe que la alteración primaria encontrada en el EMD es el acúmulo de líquido en la capa de Henle y la capa nuclear interna (CNI), este líquido es originado del flujo intravascular en desequilibrio por las presiones osmótica e hidrostática. Así mismo existe una disrupción de la Barrera Hematoretiniana Interna (BHRI), que en condiciones normales impide el paso de moléculas de mayor tamaño y por lo tanto evita la acumulación de líquido a nivel celular y extracelular, lo que se conoce como edema citotóxico y edema vasogénico respectivamente. Así mismo existe un daño en los pericitos que son células musculares contráctiles que mantienen la arquitectura vascular, lo que genera disregulación del tono vascular y la proliferación de células endoteliales.

La BHRI se altera por pérdida de las uniones celulares, pérdida de los pericitos y células endoteliales, leucostasis, incremento en la permeabilidad de las membranas celulares y del epitelio pigmentado de la retina (EPR), aumento en la activación de receptores para la producción de productos de glicosilación avanzada. Siendo este último el elemento esencial para el desarrollo del EMD. Ya que estos productos de glicosilación avanzada son los que generan la producción de interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF), aumento de colágeno tipo IV en la membrana basal de la pared vascular y daños en la fibronectina y laminina del de la pared vascular. La alteración en la vasculatura retiniana condiciona hipoxia celular

El proceso isquémico produce un proceso inflamatorio importante que incrementa la producción de proteína cinasa C (PKC), aumento en la adhesión leucocitaria, disminución del factor derivado de plaquetas (PDGF) y aumento en la concentración del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).



**Figura 2.** Esquema de vías biológicas alteradas secundarias a hiperglicemia crónica. Principales efectos deletéreos de VEGF es la permeabilidad vascular aumentada y la neovascularización.

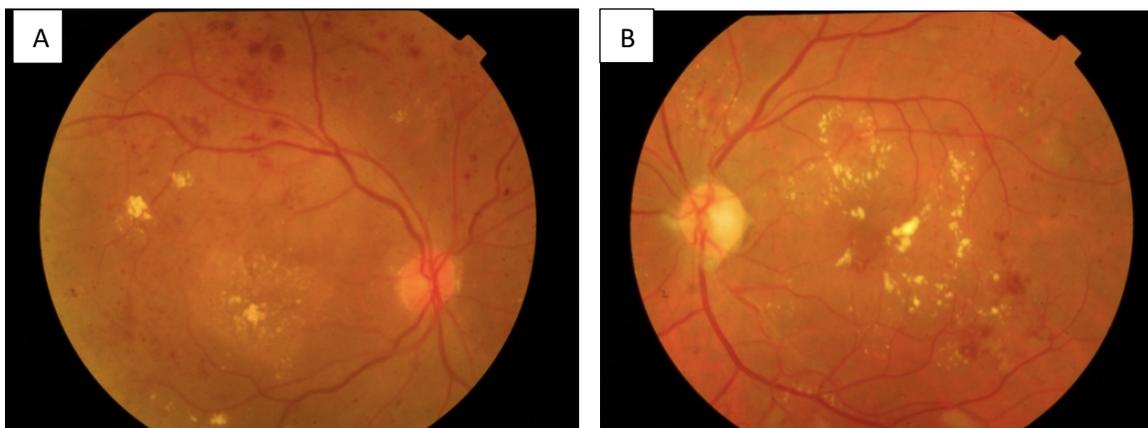
El VEGF es un miembro de la familia de factores de crecimiento *PDGF/VEGF* cuya principal función es de un potente inductor de la vasculogénesis en el desarrollo embrionario y también en la angiogénesis. En condiciones normales el VEGF es producido por diferentes células retinianas como células de Müller, células endoteliales y de EPR. Dentro de sus múltiples funciones se encuentra el crecimiento de células endoteliales, angiogénesis y promoción de migración celular, sin embargo cuando aumenta su concentración por los procesos previamente descritos genera efectos indeseables como aumentar la permeabilidad vascular y la neovascularización. En estudios in vivo e in vitro se ha encontrado que la concentración de VEGF está aumentada en la cámara anterior y en la cámara vítrea y se correlaciona con el nivel de actividad del EMD <sup>10,18</sup>.

El VEGF pertenece a un grupo de glicoproteínas diméricas que incluye a VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F y el factor de crecimiento placentario. El VEGF-A ejerce su efecto a nivel endotelial al unirse a 3 receptores: VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3. Al unirse al receptor VEGFR2 aumenta la actividad tirosina cinasa lo que resulta en la activación de múltiples vías de

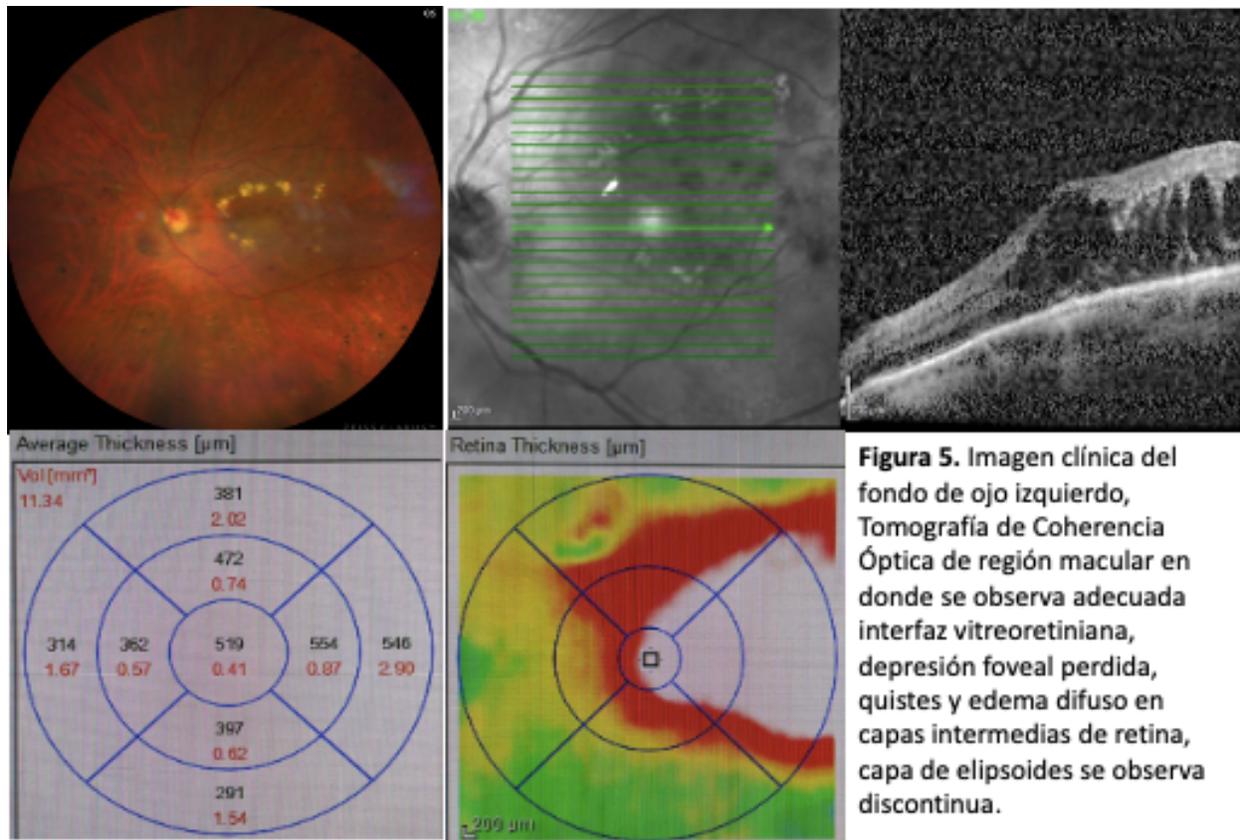
señalización, entre ellas la vía del fosfatidilinositol 3 cinasa, la proteína cinasa C, el óxido nítrico sintetasa endotelial y vías de proteína cinasa activada por cinasas. Lo que favorece la disrupción de la BHRi con el consiguiente paso de macromoléculas.

### Diagnóstico de RD y EMD

El diagnóstico de retinopatía diabética y edema macular es principalmente clínico. Respecto a la evaluación clínica de la retinopatía diabética se han descrito múltiples clasificaciones que tienen como objetivo principal determinar el riesgo de baja visual, el tratamiento sugerido y la frecuencia de seguimiento oftalmológico. Dentro de los hallazgos oftalmológicos evaluados mediante oftalmoscopia directa e indirecta podemos mencionar los microaneurismas, las microhemorragias en punto, la presencia de exudados duros y blandos. Por su parte el EMD, definido como el acúmulo de líquido en la región macular se caracteriza en por un engrosamiento de la región macular en asociación con exudados duros en esta misma región. La RD y el EMD pueden presentarse de forma concomitante y se sabe que hay mayor riesgo de presentar EMD a mayor grado de RD<sup>9</sup> (Figura 3 y 4).



**Figura 3 y 4.** A. Fondo de ojo derecho en donde se observan microhemorragias en los 4 cuadrantes, presencia de exudados duros en la región central y dentro de las 500 micras y presencia de neovasos al final de arcadas temporales. Compatible con RDP y EMD B. Fondo de ojo izquierdo con microhemorragias en los 4 cuadrantes y presencia de múltiples exudados duros circinados y dentro de las 500 micras. Compatible con RDNP grave y EMD.



**Figura 5.** Imagen clínica del fondo de ojo izquierdo, Tomografía de Coherencia Óptica de región macular en donde se observa adecuada interfaz vitreoretiniana, depresión foveal perdida, quistes y edema difuso en capas intermedias de retina, capa de elipsoides se observa discontinua.

El Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), fue un estudio prospectivo, multicentrico y aleatorizado, en donde se describió la clasificación de RD con el objetivo de uniformar los criterios para el diagnóstico y tratamiento de la RD. Sin embargo por su complejidad no se utiliza de forma rutinaria en la atención de los pacientes, actualmente y en un intento de simplificar la clasificación de esta patología a principios de los años 2000 un grupo de expertos (Global Diabetic Retinopathy Task Force) propuso la Escala Internacional de Severidad de la Retinopatía Diabética y Edema Macular Diabético <sup>19</sup>.

<b>Tabla 1. Clasificación de Retinopatía diabética Modificada.</b>		
Sin datos de Retinopatía Diabética	Sin alteraciones	Control metabólico Seguimiento oftalmológico anual o bianual
Retinopatía Diabética No Proliferativa Leve	Sólo microaneurismas	Control metabólico Seguimiento oftalmológico anual
Retinopatía Diabética No Proliferativa Moderada	Más datos clínicos que RD leve pero menos datos que en RD grave,	Control metabólico Seguimiento oftalmológico semestral
Retinopatía Diabética No Proliferativa Grave	Una de las siguientes características: Hemorragias intrarretinianas en los 4 cuadrantes Arrosariamiento venoso en 2 cuadrantes Anormalidades microvasculares intrarretinianas en 1 cuadrante.	Control metabólico estricto Seguimiento oftalmológico bimestral
Retinopatía Diabética Proliferativa	Presencia de neovascularización.	Control metabólico estricto Indicación de Panfotocoagulación y seguimiento estricto.
*Adaptada de Actualización de Guía de Retinopatía Diabética <sup>19</sup>		

<b>Tabla 2. Clasificación Internacional de Edema Macular Diabético</b>		
<b>EMD</b>	<b>Hallazgos en Oftalmoscopia</b>	<b>Seguimiento</b>
<b>EMD ausente</b>	No se observa engrosamiento retiniano ni exudados duros en polo posterior	Revisión anual o bianual
<b>EMD presente</b>	Engrosamiento de la retina o exudados duros en polo posterior	Manejo médico

De acuerdo al ETDRS, se definió también el término Edema Macular Clínicamente Significativo (EMCS) como aquel que presenta cualquiera de las siguientes características: 1. Engrosamiento de la retina dentro de las 500 micras del centro de la mácula, 2. Exudados duros dentro de las 500 micras asociados a engrosamiento de la retina adyacente y 3. Una o varias áreas de engrosamiento retiniano del tamaño de un diametro de disco dentro de un diametro de disco del centro de la mácula (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de Edema Macular Diabético Clínicamente Significativo	
	<p>1. Engrosamiento de la retina dentro de las 500 micras del centro de la mácula</p>
	<p>2. Exudados duros dentro de las 500 micras asociados a engrosamiento de la retina adyacente</p>
	<p>3. Una o varias áreas de engrosamiento retiniano del tamaño de un diametro de disco dentro de un diametro de disco del centro de la mácula.</p>

Además de mediante la oftalmoscopia, podemos evaluar el EMD mediante Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) de la región macular. En la cual podemos obtener imágenes de alta resolución de las capas de la retina. De acuerdo a la clasificación de Kim y Otani se describen 5 tipos de EMD mediante OCT de la región macular (Tabla 4).<sup>20</sup>

### **Tratamiento EMD**

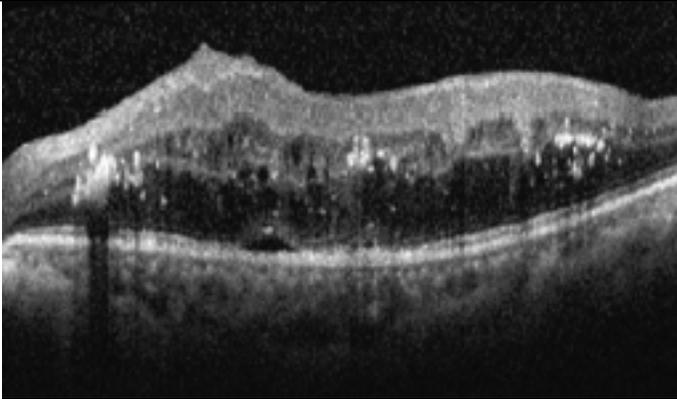
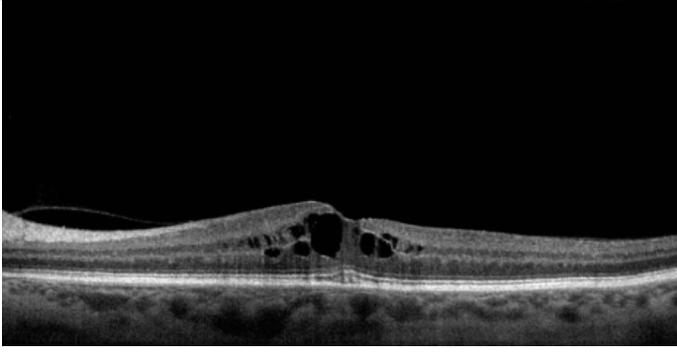
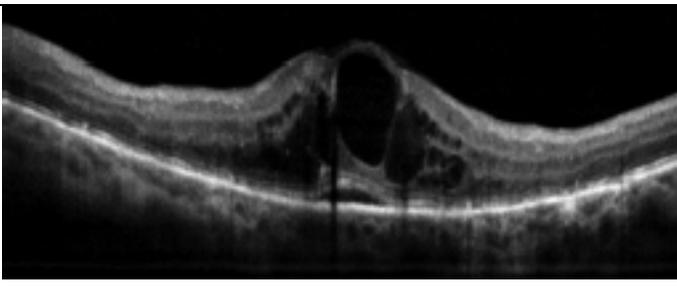
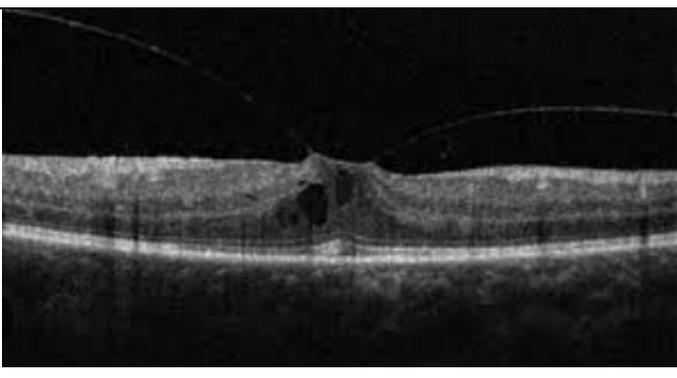
El tratamiento de edema macular diabético ha ido cambiando a lo largo de los años, actualmente el tratamiento de primera elección es la terapia antiangiogénica, la cual tiene como mecanismo de acción la inhibición de *VEGF-A* y por lo tanto la inhibición de los efectos deletéreos que produce en la RD y el EMD.<sup>21</sup> Los medicamentos más usados en nuestro país al momento son Aflibercept y Ranibizumab.<sup>21</sup>

El Ranibizumab es un fragmento de anticuerpo recombinante humanizado que se une a todas las formas de *VEGF-A*, tiene una vida media relativamente corta y en 2006 fue aprobada para su uso intravítreo para Degeneración Macular Relacionada a la Edad Húmeda. Así mismo ha demostrado poder inhibir la actividad antiangiogénica con resultados en la mejoría de agudeza visual y con suficiente seguridad en su aplicación. Múltiples estudios han demostrado la eficacia de Ranibizumab en el tratamiento del EMD.<sup>22-25</sup>

El Aflibercept es una proteína de fusión que comprende el segundo dominio de inmunoglobulina del receptor *VEGFR-1*, el tercer dominio de inmunoglobulina del *VEGFR-2* y la porción de la *IgG1*. Además de inhibir el *VEGF-A* también inhibe el factor de crecimiento placentario. Tiene 100 veces mayor afinidad que el ranibizumab y en 2014 fue aprobada por la FDA para su uso intravítreo en EMD y múltiples estudios han demostrado su eficacia y seguridad.<sup>26-28</sup>

La terapia antiangiogénica se aplica de manera inicial en un curso de 3 aplicaciones intravítreas de forma mensual y por razón necesaria posteriormente. Sin embargo debido a sus altos costos tanto en sector privado como público, el inicio del tratamiento se ve muchas veces retrasado o interrumpido.

**Tabla 4. Clasificación de EMD mediante Tomografía de Coherencia Óptica**

	a) Edema Difuso
	b) Edema Cistoideo
	c) Desprendimiento de retina seroso
	d) Tracción hialoidea posterior con y sin tracción macular
*20	

<b>Tabla 5. Antiangiogénicos utilizados en el tratamiento para EMD.</b>		
<b>Características</b>	<b>Ranibizumab</b>	<b>Aflibercept</b>
<b>Descripción</b>	Fragmento de anticuerpo recombinante humanizado contra VEGF-A	Proteína de fusión con secuencias de receptor unidas al fragmento Fc de IgG
<b>Peso Molecular</b>	48	115
<b>Unión a isoformas</b>	VEGF-A	VEGF-A, VEGF-B, factor de crecimiento placentario
<b>Afinidad de unión</b>	50	0.5
<b>Vida media intravítrea (días)</b>	7.1	9
<b>Vida media en sangre (días)</b>	2-4	6
VEGF Factor de Crecimiento Vascular Endotelial EMD Edema Macular Diabético Fc. Fracción constante		

Existe también un porcentaje de pacientes que no responden de forma óptima a la aplicación de antiangiogénicos, lo que ha hecho suponer que existen variaciones en los mecanismos que pueden determinar la respuesta y la evolución de la enfermedad.<sup>10,20,22–25,27–29</sup>

Debido a la variabilidad en la presentación y a la respuesta subóptima ante el tratamiento de EMD en un porcentaje de los pacientes, se piensa que existen otros factores que determinen la incidencia y la evolución de estos pacientes además de los factores ambientales<sup>25</sup>.

### **Factores Genéticos**

En cuanto a los factores genéticos, existe una clara relación familiar en la DM2, documentada en estudios familiares y de gemelos que sugieren una base genética común. Se han utilizado diversos métodos para la identificación de variantes asociadas a una mayor incidencia de retinopatía diabética y edema macular diabético, entre las técnicas empleadas se describen los estudios de gen candidato, asociación de genoma completo (GWAS), ligamiento y asociación con haplotipos<sup>30</sup>. De forma más reciente se han empleado métodos más sofisticados que nos permiten la

detección cualitativa y cuantitativa de material genético específico, como lo es la reacción en cadena de polimerasa (PCR) <sup>31</sup>

Se describe una heredabilidad de 25-52% de DM2 y una concordancia de hasta el 95% en hermanos gemelos. Hasta el momento se han encontrado alrededor de 60 loci para DM2 de los cuales la mayoría se describen en población europea, asiáticos y afroamericanos <sup>3233</sup>Estudios con familiares de primer grado muestran que tener antecedentes heredo familiares de DM2 con RD aumenta 3 veces el riesgo de presentar RD comparado con personas con antecedentes familiares sin retinopatía diabética.

Los genes de interés son principalmente los relacionados con las diferentes vías involucradas en la fisiopatogenia de la retinopatía diabética y el edema macular, entre ellos el gen de factor de crecimiento vascular endotelial (*VEGF-A*), gen de la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*), gen de aldosa reductasa, gen del receptor de los productos de glicosilación avanzada (*RAGE*), receptor de glucosa celular GLUT1. La mayoría de los estudios se han enfocado en el gen *VEGF-A* por sus implicaciones biológicas, ya que altos niveles de VEGF en vítreo se asocian a mayor severidad de retinopatía diabética y edema macular <sup>3435</sup>.

El gen de *VEGF-A* contiene 14 kb de región codificadora con 8 exones y 7 intrones, siendo altamente polimorfo <sup>36</sup>

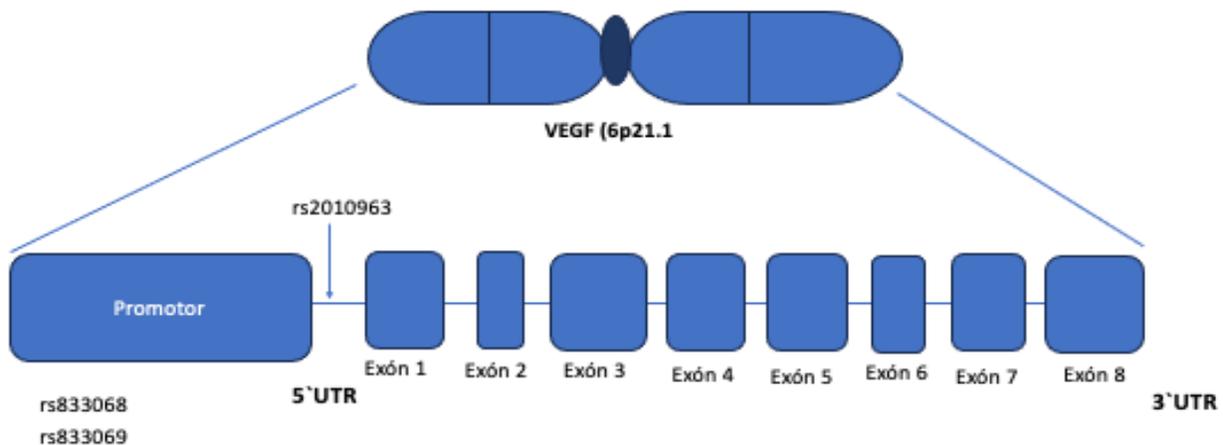


Figura 5. Diagrama esquemático del gen VEGF, donde se observa la localización de los dos polimorfismos estudiados. Rs2010963 en 5`UTR y rs833069 en la región promotora.

Sin embargo en la alteración del metabolismo de la glucosa producida por en los pacientes diabéticos, la hiperglicemia crónica e imperante, genera a nivel ocular productos de glicosilación avanzada y un ambiente hipóxico, lo cual favorece el aumento anómalo de la concentración del factor de crecimiento endotelial (*VEGF-A*) y ésta a su vez genera la ruptura de la barrera hematoretiniana y el aumento de la permeabilidad vascular <sup>37</sup> por lo que las SNV podrían afectar la expresión del gen y por lo tanto sus múltiples funciones <sup>38</sup>

Actualmente existen alrededor de 15 SNVs de *VEGF-A* asociados a la retinopatía diabética y son al menos 5 los descritos asociados a edema macular diabético <sup>18</sup>.

Tabla 6 Resumen de Genes Candidatos Individuales Estudiados de Retinopatía Diabética.			
Gen	Localización	SNVs	Efecto en RD
VEGF-A	6p21.1	Rs2010963	Riesgo aumentado de RD
		Rs735286	Riesgo aumentado de RD
		Rs214623	Riesgo aumentado de RD
		Rs833068	Riesgo aumentado de RD
		Rs833070	Riesgo aumentado de RD
		Rs3025039	Riesgo aumentado de RD
		Rs3025021	Riesgo aumentado de RD
		Rs13207351	Riesgo aumentado de RD
		Rs2146323	Riesgo aumentado de RD
		Rs833069	Riesgo aumentado de RD
VEGF-A Factor de crecimiento vascular endotelial RD Retinopatía diabética SNVs Variantes de nucleótido sencillo 14,33,38-44			

De los polimorfismos descritos en la literatura se eligió rs2010963 debido a que es el SNV más estudiado en asociación con RD y EMD <sup>38,40,42,43</sup>. Por su parte elegimos rs833069 debido a su localización y su asociación con la progresión de la retinopatía diabética <sup>14</sup>.

Hasta el momento encontramos solo un estudio en la literatura que estudió la presencia de 4 SNVs, entre ellos rs2010963 en asociación con retinopatía diabética en población mexicana <sup>45</sup>.

De los SNVs de *VEGF-A* asociados a edema macular diabético, se encuentra el rs2010963 localizado en la región promotora 5'UTR, del cual se observó que el alelo C confiere riesgo para retinopatía diabética no proliferativa (OR 1.61: IC 95%, 1.23-2.10  $p = 5 \times 10^{-04}$ ), así mismo se ha correlacionado con severidad de edema macular diabético en población japonesa, egipcia y eslovaca. Por otra parte, se observó que la presencia del genotipo CC presentaba una mejor agudeza visual posterior al tratamiento con antiangiogénico <sup>36,46</sup>. Por otro lado, el SNV (rs833069 en el intrón 2) también se ha descrito asociado con desarrollo y progresión de edema macular, así como un riesgo aumentado de retinopatía diabética en población turca <sup>47</sup>.

### **3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

Los SNVs rs2010963 y rs833069 del gen *VEGF-A* se han asociado a retinopatía diabética previamente en la literatura, sin embargo, hasta el momento existe poca información sobre la presencia de estos en EMD. Hasta el momento se ha descrito poco al respecto en población egipcia, turca y japonesa y nula información de estos en población latina <sup>32</sup>

Dada la alta tasa de morbilidad y el gran costo económico en los servicios de salud que supone el diagnóstico y tratamiento del edema macular diabético, la identificación de SNVs específicos nos podrá permitir entender mejor su variabilidad de presentación.

#### **4.-PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe asociación con EMD y la presencia de SNVs rs2010963 y rs833069 del gen *VEGF-A* en pacientes diabéticos en población mexicana?

#### **5.- HIPÓTESIS**

Existe una asociación entre los SNVs rs2010963 y rs833069 del gen *VEGF-A* en pacientes diabéticos con EMD en población mexicana.

#### **6.- OBJETIVOS**

##### **Objetivo General**

- Determinar si existe una asociación entre los SNVs rs2010963 y rs833069 en el gen *VEGF-A* en pacientes diabéticos con diagnóstico de EMD en población mexicana.

##### **Objetivos Específicos**

- Describir la frecuencia de la presencia de los SNVs en relación con el edema macular.
- Describir las características de poblaciones de ambos grupos y su asociación con los SNVs en estudio.

## 7.- DISEÑO Y METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de casos y controles. El grupo de estudio consistió de hombres y mujeres, pacientes del servicio de Retina y Vítreo del Instituto Nacional de Rehabilitación en el periodo de octubre 2021 a abril del 2023 con diagnóstico de DM2 de acuerdo a los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (glicemia sanguínea mayor de 126 mg/dl en ayuno, estudio de tolerancia a la glucosa con una glicemia a las 2 horas igual o mayor a 200 mg/dl, hemoglobina glicosilada mayor de 6.5% o presencia de síntomas clínicos). De estos pacientes se realizaron dos grupos, un primer grupo con edema macular (casos) y un segundo grupo sin la presencia de edema macular (controles), ambos grupos con retinopatía diabética proliferativa (RDP).

Los criterios de inclusión fueron: pacientes en un rango de edad de 20 a 65 años, con edema macular diagnosticado de forma clínica, es decir la presencia de engrosamiento macular y/o presencia de exudados duros mediante hallazgos de Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) de la región macular en presencia de retinopatía diabética proliferativa (Tabla 1).

Los criterios de exclusión fueron: pacientes que no contaban con presencia de edema macular y que contaban con diagnóstico de retinopatía diabética proliferativa, un nivel de glicemia mayor a 350 mg/dl en ayuno y una cifra de hemoglobina glicosilada mayor a 11.5%, (Tabla 1). Todos los pacientes incluidos firmaron una carta de consentimiento informado, (Anexo 1). El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra bajo el registro 86/23 (Anexo 2).

<b>Tabla 7 Criterios de Inlcusión, exclusión y eliminación.</b>		
<b>Criterios</b>	<b>Casos</b>	<b>Control</b>
<b>Inclusión</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Género femenino o masculino</li> <li>• Edad entre 20 y 65 años.</li> <li>• Diagnóstico mayor a 10 años de DM2 de acuerdo a criterios de laboratorio.</li> <li>• RDP</li> <li>• Presencia de EMD diagnosticado de forma clínica y mediante Tomografía de Coherencia Óptica (OCT).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Género femenino o masculino</li> <li>• Edad entre 20 y 65 años.</li> <li>• Diagnóstico mayor a 10 años de DM2 de acuerdo a criterios de laboratorio.</li> <li>• RDP</li> <li>• Ausencia de EMD</li> </ul>
<b>Exclusión</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnóstico de edema macular diabético de otra etiología.</li> <li>• Antecedente de oclusión vascular, neovascularización de otra etiología.</li> <li>• Otras maculopatías.</li> <li>• Glicemia central mayor de 350 mg/dl en ayuno.</li> <li>• Hemoglobina glicosilada mayor de 11.5%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnóstico de edema macular diabético de otra etiología.</li> <li>• Antecedente de oclusión vascular, neovascularización de otra etiología.</li> <li>• Otras maculopatías.</li> <li>• Glicemia central mayor de 350 mg/dl en ayuno.</li> <li>• Hemoglobina glicosilada mayor de 11.5%</li> </ul>
<b>Eliminación</b>	Pacientes en los que no se obtuvo muestra de sangre suficiente.	

## 8.- POBLACIÓN MUESTRA

Respecto al SNV rs2010963, en la literatura se reporta una frecuencia del alelo C de 0.354, una frecuencia de alelo G de 0.646, siendo el alelo silvestre el alelo G. Respecto al polimorfismo rs833069, se reporta una frecuencia del alelo C de 0.359, una frecuencia de alelo T de 0.641, siendo el alelo silvestre el alelo C. Por lo que se calculó un tamaño de muestra con base en la menor frecuencia de los polimorfismos en población mexicana reportada.

El tamaño de muestra se calculó con el objetivo de tener un poder estadístico del 80%, un nivel de significancia del 5%, con una frecuencia alélica menor en los casos de 30% y para detectar un OR de 2.5, calculándose una tasa control de 1:1. Siendo la muestra calculada 105 pacientes para el grupo de casos y 105 pacientes para el grupo de controles. El cálculo se realizó en ClinCalc (<https://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>)

## 9.-DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

**Variable Dependiente:** Edema Macular Diabético (EMD).

**Variable Independiente:** Presencia o ausencia de los SNVs rs2010963 y rs833069.

**Variables Confusoras:** Glicemia, hemoglobina glicosilada, hipertensión arterial sistémica.

<b>Tabla 8. Variables incluidas en estudio</b>			
<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Tipo de Variable</b>	<b>Escala de Medición</b>
<b>Edad</b>	Años Cumplidos de vida al momento de entrar al estudio.	Cuantitativa discreta	Años
<b>Género</b>	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer.	Categórica Dicotómico	Masculino Femenino
<b>HAS</b>	Enfermedades sistémicas caracterizada por cifras de tensión arterial elevadas	Categórica dicotómica	No-0 Si-1
<b>Glicemia central</b>	Resultado de glucosa en muestra de sangre periférica.	Cuantitativa Continua	mg/dl
<b>HbA1c</b>	Concentración Sérica que corresponde al promedio de glucosa diario durante los últimos 3 meses	Cuantitativa Continua	% Porcentual
<b>Presencia de polimorfismo rs2010963</b>	Presentación de cambio alélico	Categórica Nominal	Heterocigoto C/G Homocigoto C/C Homocigoto G/G
<b>Presencia de polimorfismo rs833069</b>	Presentación de cambio alélico	Categórica Nominal	Heterocigoto C/T Homocigoto T/T Homocigoto C/C
<p><u>HAS Hipertensión Arterial Sistémica</u>  <u>HbA1c hemoglobina glicosilada</u>  <u>mg/dl miligramos sobre decilitros.</u></p>			

## 10- GENOTIPIFICACIÓN

La genotipificación de los SNVs rs2010963 (C\_\_8311614\_10), y el rs833069 (C\_\_11400863\_20) se realizó utilizando el ensayo prediseñado TaqMan SNP Genotyping (Applied Biosystems, Massachusetts, MA, EE. UU.). En un sistema de PCR en tiempo-Real QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR (Applied Biosystems, Massachusetts, MA, EE. UU.). La asignación de los genotipos de las variantes genéticas, se realizó mediante el software SDS versión 2.2.1.

## 11- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este grupo de estudio se reportó el equilibrio de Hardy- Weinberg (HWE) mediante la prueba de chi-cuadrado.

Se realizaron pruebas T de Student para comparar las características demográficas en ambos grupos. Se utilizó estadística descriptiva para describir las características demográficas de los grupos.

Todas las asociaciones fueron probadas bajo modelos de herencia aditivo, dominante, recesiva y codominante. El análisis estadístico se realizó utilizando el software STATA, versión 17.0 (StataCorp LP, College Station, TX, EE. UU.).

El **modelo dominante** sugiere que una única copia del alelo C es suficiente para modificar el riesgo y el hecho de ser portador de 2 copias no aumenta este riesgo. Es decir, los heterocigotos y homocigotos de la variante presentan el mismo riesgo.

El **modelo recesivo** sugiere que se requieren dos copias del alelo para modificar el riesgo, sin que haya un aumento en el riesgo con una sola copia. Es decir, los heterocigotos y homocigotos de la variante más frecuente presentan el mismo riesgo.

**Modelo aditivo**, sugiere que cada copia del alelo variante aumenta el riesgo en escala logit, haciendo una comparación de la combinación ponderada.

**Modelo codominante** supone que cada genotipo brinda un riesgo de enfermedad diferente y de forma no aditiva <sup>48</sup>.

Se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para ajustar las diferentes variables en cada modelo de herencia, tales como: glicemia central, hemoglobina glicosilada, presencia de hipertensión arterial sistémica, edad y género. El efecto de la asociación genética se estableció mediante el valor de odds ratio (OR). Se comparó la distribución de los alelos y del genotipo de los polimorfismos entre los grupos de casos y controles. Se consideró significativo el valor de  $p < 0,05$ .

## **12.- DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS**

La descripción de procedimientos y el protocolo de extracción de ADN están descritos en los Anexos 3 y 4.

## **13-CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este estudio se fundamenta en las pautas actuales de las guías de ética internacionales vigentes respecto a la Declaración de Helsinki y al informe de Belmont. Así mismo cumple con los principios de bioética de autonomía y beneficencia.

Este protocolo cumple con lo establecido a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y Protección de Datos Personales.

Riesgo de la investigación: Conforme a la Ley General de Salud en materia de investigación el estudio, al artículo 17 II, este estudio representa con un riesgo mínimo.

## 14-RESULTADOS

Se reclutaron un total de 183 pacientes, de los cuales 99 fueron casos y 84 fueron controles. La media de edad para el grupo de casos fue de 61.54 años (rango de 24 a 81). La mediana fue de 61 años. La media de edad para el grupo de controles fue de 61.30 años (rango de 27-91). La mediana fue de 60.5 años. Sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa entre los grupos por edad ( $p$  0.86). El 59.01% fueron mujeres y el 40.01% fueron hombres.

El 64.4% del total de los pacientes presentaron Hipertensión Arterial sistémica. En el grupo de controles se documentó una prevalencia de 58% y en el grupo de casos fue de 60%. No encontrándose diferencia entre los grupos ( $p$  = 0.20). La media de glucosa en el grupo de controles fue de 163.66 y en el grupo de casos fue de 165.78. No encontrándose diferencia estadísticamente significativa ( $p$  0.278).

La media de hemoglobina glicosilada en el grupo de controles fue de 7.97%. (rango de 5.3 a 11.4%). La media de hemoglobina glicosilada en el grupo de casos fue de 7.94%. (rango de 5.4 a 11.3%). No encontrándose diferencia entre los grupos respecto a los valores de glucosa y hemoglobina glicosilada ( $p$  0.15). No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las características demográficas de ambos grupos. Las características demográficas y clínicas están resumidas en la Tabla 9.

<b>Tabla 9. Descripción de las variables demográficas y clínicas estudiadas por grupos.</b>			
<b>Variable</b>	<b>Casos</b>	<b>Controles</b>	<b>Valor de P</b>
<b>Edad (años)</b>	61.5	61.3	0.863
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	165.78	163.66	0.278
<b>HbA1c (%)</b>	7.94	7.97	0.874
<b>HAS (%)</b>	60 (71.40%)	58 (58%)	0.205

HbA1c: hemoglobina glicosilada, HAS: hipertensión arterial sistémica. IC: intervalo de confianza del 95%. Valor  $p$  <0.05

Las frecuencias alélicas obtenidas fueron de 64% para el rs2010963 y del 59% para el rs833069. En la tabla 10 se describe la información de los polimorfismos estudiados y en la Tabla 5 se describen las frecuencias alélicas comparadas en diferentes poblaciones.

<b>Tabla 10. Información de los polimorfismos analizados en este estudio.</b>					
Polimorfismo	Gen	Cromosoma	Alelo	Posición	Localización
rs2010963	VEGF-A	6p	G/C	6.43770613	Intergénico
rs833069		6p	T/C	6.43774842	Intergénico
VEGF-A: Factor de crecimiento vascular endotelial					

<b>Tabla 11. Descripción de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones de acuerdo a 1000 genomas.</b>						
Polimorfismo	Gen	MAF	Montalvo et al	MXL	CEU	Salinas-González et al
rs2010963	VEGF-A	C	C: 0.355	C: 0.336	C: 0.328	C: 0.392
rs833069	VEGF-A	C	C: .407	C: 0.359	C: 0.328	
VEGF-A: Factor de crecimiento vascular endotelial. MXL Población mexicana nacida en Los Angeles. CEU: residentes de Utah con ascendencia del norte y oeste de Europa. MAF Alelo de menor frecuencia por sus siglas en inglés Minor Allele Frequency.						

De acuerdo a las frecuencias alélicas y mediante Equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) se encontró que ambos polimorfismos se encontraban en equilibrio (Tabla 12).

<b>Tabla 12. Frecuencias alélicas y genotipos. Equilibrio de Hardy Weinberg (HWE) y valores de P analizados para los polimorfismos.</b>				
Polimorfismo	Genotipo	N	%	HWE
rs2010963	G/G	40	40.74	0.702
	C/G	37	35.52	
	C/C	7	7.74	
	Alelo	117	69.64	
	G C	51	30.36	
rs833069	T/T	29	29.76	0.730
	C/T	42	40.48	
	C/C	13	13.76	
	Alelo	100	59.52	
	T C	68	40.48	
N: número total, % frecuencia, HWE: prueba de Equilibrio de Hardy-Weinberg				

El análisis de asociación se llevó a cabo mediante modelos de regresión logística correspondientes a los diferentes modelos de herencia para ambos polimorfismos.

### **Genotipificación para rs2010963**

El **modelo aditivo** ajustado no mostró diferencia estadísticamente significativa, es decir, no se observó una asociación de este SNV con la presencia de edema macular diabético (OR 1.47 IC 0.959- 2.260767,  $p$  0.076). Así mismo en el **modelo dominante** tampoco se encontró una diferencia estadísticamente significativa, (OR 1.35, IC .745;2.4610,  $p$  = 0.319).

El **modelo codominante** mostró que con la presencia de dos copias existe una asociación entre el rs2010963 y el EMD (OR 2.80 IC 1.055;7.445,  $p$  0.039) y no es significativo con la presencia de una sola copia ( $p$  = 0.828). Es decir, los individuos portadores del genotipo CC tienen un riesgo elevado de presentar EMD.

En el **modelo recesivo** se encontró que los individuos portadores del alelo C tienen un riesgo aumentado de presentar EMD (OR 2.7 IC 1.027-6.837,  $p$  = 0.035).

### **Genotipificación de rs833069**

No se encontró asociación con el polimorfismo rs833069 en ninguno de los modelos. (OR<sub>aditivo</sub> 1.00, IC 0.667- 1.509,  $p$  0.987), (OR<sub>dominante</sub> 0.80, IC 0.434- 1.482,  $p$  0.483), (OR<sub>codominante</sub> 1.16, IC 0.496;2.739,  $p$  0.724), (OR<sub>recesivo</sub> 1.42, IC 0.658;3.099,  $p$  0.367).

En la Tabla 7 se resume la asociación de ambos polimorfismos entre los grupos de estudio. Así mismo, en las Tablas 8 y 9 se resume la asociación estudiada para las variables cuantitativas y cualitativas.

**Tabla 13. Asociación de polimorfismos en estudio en función de modelo de herencia.**

SNV	Modelo	Genotipo	Casos	Controles	OR	Valor p
rs2010963	Aditivo		99	84	1.47 (0.95;2.26)	0.076
	Dominante	G/G	40	40	1	(0.319)
		G/C+C/C	59	44	1.35 (0.74;2.46)	
	Codominante	G/G	40	40	1	0.828 0.037*
		C/G	39	37	1.07 (0.56;2.03)	
		C/C	20	7	2.80 (1.05;7.44)	
Recesivo	C/G + G/G	79	47	1	0.035*	
	C/C	20	7	2.70 (1.07;6.83)		
rs833069	Aditivo		99	84		0.987
	Dominante	C/C	39	29	1	0.826
		C/T+T/T	78	71	0.80 (0.43;1.48)	
	Codominante	T/T	39	29	1	0.264 0.724
		C/T	39	42	0.68 (0.35;1.32)	
		C/C	21	13	1.16 (0.49;2.73)	
Recesivo	C/C+C/T	60	55	1	0.367	
	T/T	39	29	1.42 (0.65;3.09)		

OR: razón de prevalencia u odds ratio. \*  $p < 0.05$

<b>Tabla 14. Asociación de los polimorfismos con variables cuantitativas estudiadas en población mexicana.</b>					
<b>Variable</b>	<b>Gen</b>	<b>Polimorfismo</b>	<b>Modelo</b>	<b>β (95% IC)</b>	<b>p</b>
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs2010963	Aditivo	0.52 (-1.39;2.43) 0.01 (-2.01;0.23) -3.95 (-12.30;4.39)	0.592 0.871 0.351
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs2010963	Dominante	1.27 (-1.44;4.00) -0.00 (-0.32;0.30) -4.07 (-16.02;7.86)	0.356 0.962 0.501
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs2010963	Recesivo	-0.43 (-4.25;3.39) 0.08 (-0.35;0.52) -7.77 (-24.43;8.88)	0.823 0.696 0.358
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs2010963	Codominante	1.60 (-1.32;4.54) 0.34 (-3.73;4.43) -0.03 (-0.37;0.30) 0.06 (-0.39;0.53) -2.34 (-15.20;10.51) -8.91 (-26.74;8.91)	0.281 0.866 0.837 0.770 0.719 0.325
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs833069	Aditivo	-0.20 (-2.08;1.66) 0.01 (-0.19;0.23) 0.55 (-7.62;8.73)	0.825 0.863 0.893
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs833069	Dominante	0.60 (-2.20;3.40) 0.01 (-0.30;0.33) 0.93 (-11.32;13.20)	0.672 0.944 0.880
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs833069	Recesivo	-1.65 (-5.12;1.82) 0.047 (-0.35;0.44) 0.48 (-14.75;15.72)	0.349 0.814 0.950
Edad (a) HbA1c (%) Glucosa (mg/dl)	VEGF-A	rs833069	Codominante	1.27 (-1.74;4.29) -0.96 (-4.80;2.87) -0.00 (-0.35;0.34) 0.04 (-0.39;0.48) 0.91 (-12.34;14.18) 0.97 (-15.87;17.83)	0.407 0.620 0.985 0.838 0.891 0.909

VEGF-A Factor de crecimiento vascular endotelial, HbA1c hemoglobona glicosilada, IC Intervalo de confianza.  
Valor de p ajustado. P < 0.05  
(a) años  
mg/dl miligramos sobre decilitros  
% frecuencia

<b>Tabla 15. Asociación de los polimorfismos con variables categóricas estudiadas en población mexicana.</b>					
<b>Variable</b>	<b>Gen</b>	<b>Polimorfismo</b>	<b>Modelo</b>	<b>OR (95% IC)</b>	<b>P</b>
Género	VEGF-A	Rs2010963	Aditivo	1.05 (0.69;1.61)	0.793
HAS				0.80 (0.52;1.23)	0.312
Género	VEGF-A	Rs2010963	Dominante	1.21 (0.66;2.20)	0.528
HAS				0.80 (0.43;1.48)	0.480
Género	VEGF-A	Rs2010963	Recesivo	0.858 (0.37;1.97)	0.719
HAS				0.64 (0.28;1.48)	0.304
Género	VEGF-A	Rs2010963	Codominante	1.31 (0.68;2.50)	0.412
HAS				0.97 (0.40;2.37)	0.960
				0.88 (0.45;1.72)	0.724
				0.60 (0.24;1.49)	0.278
Género	VEGF-A	rs833069	Aditivo	1.01 (0.67;1.52)	0.956
HAS				0.82 (0.54;1.26)	0.380
Género	VEGF-A	rs833069	Dominante	1.23 (0.66;2.27)	0.508
HAS				0.72 (0.38;1.37)	0.320
Género	VEGF-A	rs833069	Recesivo	0.75 (0.35;1.61)	0.472
HAS				0.85 (0.39;1.85)	0.691
Género	VEGF-A	rs833069	Codominante	1.40 (0.72;2.73)	0.315
HAS				0.90 (0.39;2.08)	0.821
		VEGF-A	rs833069	Codominante	0.72 (0.36;1.44)
				0.71 (0.30;1.70)	0.451

VEGF-A Factor de crecimiento vascular endotelial, HAS Hipertensión arterial sistémica, OR razón de prevalencia u odds ratio, IC Intervalo de confianza. Valor de p ajustado.  $p < 0.05$

## 15-DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que involucra los SNVs rs2010963 y rs833069 localizados en el gen *VEGF-A* y EMD en población mexicana. El principal hallazgo de la investigación fue que en población mexicana se observó una asociación del rs2010963 y el EMD.

La RD es la complicación más frecuente de la diabetes y una de las principales causas de ceguera en todo el mundo <sup>6</sup>. Aproximadamente el 20% de los pacientes con RD tienen EMD que se define como la presencia de líquido intrarretiniano en la región macular <sup>49</sup>. El EMD puede ocurrir en cualquier momento de la RD, pero es más probable que ocurra en etapas más avanzadas de la enfermedad. Los pacientes diabéticos con ascendencia afroamericana tienen el mayor riesgo de desarrollar EMD de todas las poblaciones en los Estados Unidos, estimado en tres veces mayor que los de ascendencia europea <sup>7</sup>.

El Edema Macular en el contexto de pacientes diabéticos supone la principal causa de disminución visual en estos pacientes, su presentación es variable y se sabe que existen diferentes factores que determinan su incidencia y progresión como ocurre en la retinopatía diabética. Los factores de riesgo incluyen el número de años de ser diabético, un control glicémico inadecuado, una hemoglobina glicosilada por arriba de 7%, comorbilidades como hipertensión arterial sistémica y se sabe que existe también un componente genético que hasta el momento es poco claro. Además de que existe poca información sobre la prevalencia de retinopatía diabética y edema macular diabética en población mexicano-americana y en consecuencia existe también poca información sobre los componentes genéticos que delinear esta entidad. <sup>9,10,13,16,25</sup>

En nuestro estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las características clínicas ambos grupos. Estos hallazgos podrían explicarse parcialmente considerando que la población que acudió en el periodo de pandemia fueron pacientes que presentaban principalmente baja visual ya sea por edema macular diabético o por hemorragias, así mismo eran pacientes que contaban con condiciones sistémicas relativamente estables y estaban libres de síntomas respiratorios.

El gen del Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (del inglés VEGF, vascular endothelial growth factor) es uno de los genes más estudiados, por su importante participación en el desarrollo de la patología. Cabe mencionar que dada su localización es una región altamente polimórfica, lo que la hace de especial interés. Se han reportado varios polimorfismos de *VEGF-A* asociados principalmente a retinopatía diabética en algunas poblaciones, existiendo poca información para edema macular diabético.

Nos centramos en el SNV rs2010963 localizado en la región promotora (5' UTR), del gen *VEGF-A*, ya que es uno de los SNV más estudiados, sin embargo, es controversial el papel que juega en la enfermedad.

Awata et al <sup>18</sup> identificaron que los niveles séricos de VEGF eran más altos en individuos sanos con el genotipo rs2010963 C/C que en otros. Vailati et al. <sup>36</sup> mostraron que la expresión del gen *VEGF-A* en la retina humana era mayor en sujetos con el alelo C del polimorfismo rs2010963. Por otro lado, se asocia con la gravedad en DMAE y RD <sup>50</sup>. Además, el alelo C de este SNV fue más frecuente en pacientes con retinopatía diabética proliferativa y edema macular diabética (PDR y EMD) en población japonesa y eslovaca <sup>47</sup>. El-Shazly et al <sup>51</sup> confirmó la SNV rs2010963 como un factor de riesgo para EMD y también demostraron que la presencia del genotipo CC garantizaba mejores resultados visuales después del tratamiento con bevacizumab intravítreo. Los resultados de este estudio, están de acuerdo con lo reportado en otras poblaciones.

En el meta-análisis de Qiu et al en población china <sup>33</sup> reportó una asociación entre rs2010963 - 634G>C y la RD, sin embargo, en contraste en el metaanálisis de Han et al realizado en población australiana (8) no se encontró esta asociación. Es importante mencionar que la mayoría de estos estudios se han enfocado en la asociación entre la SNV y la RD y son pocos los estudios que han reportado resultados sobre EMD. Basados en los resultados, podemos concluir que cada población puede presentar diferentes asociaciones con los SNVs. Esta variación pudiera explicarse por la variabilidad genómica que existe en cada población.

Los estudios en población mexicana son escasos, González-Salinas et al <sup>45</sup> estudió 3 SNVs, entre ellos el rs2010963 buscando asociación con RD, sin embargo, no se encontró asociación. No

existen estudios de asociación en población mexicana para edema macular, siendo este trabajo el primero en describir la relación de este polimorfismo en esta población.

Aunque rs2010963 es un polimorfismo funcional asociado con niveles elevados de VEGF-A en suero y vítreo en la retina humana <sup>50</sup> no se ha demostrado una asociación farmacogenética con la respuesta a los agentes anti-VEGF en diferentes poblaciones. Además, la asociación entre este polimorfismo y la DMRE húmeda no se ha demostrado claramente, existen discrepancias entre poblaciones como la china, la japonesa y la taiwanesa, donde no existe una asociación significativa, y en población polaca, donde sí se ha observado dicha asociación <sup>44</sup>

En relación al rs833069, los reportes en la literatura evidencian una asociación con el desarrollo y la progresión de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) <sup>47</sup>, la respuesta anatómica a la administración intravítrea del anti angiogénico ranibizumab, en pacientes con DMAE y el incremento en el riesgo de retinopatía diabética (RD) en población turca y coreana.<sup>14,33,38,41</sup>

Los estudios de asociación de rs833069 y la gravedad del RD y EMD son escasos, uno de ellos realizado en población turca <sup>14</sup> y no existen para las poblaciones latinoamericanas.

Nuestro estudio reveló que el SNV rs833069 no tiene una asociación clara con el EMD, lo que podría explicarse parcialmente por el tamaño de la muestra.

Cabe señalar que algunas de las limitaciones de este estudio es el pequeño tamaño de la muestra; sin embargo, nuestro cálculo del tamaño de la muestra se realizó para detectar un OR mínimo de 2,5, lo cual es razonable considerando informes anteriores <sup>39,52</sup>. Otra limitación es la falta de datos clínicos sobre complicaciones microvasculares relacionadas con enfermedades secundarias (es decir, dislipidemia o nefropatía) y tratamiento farmacológico en la población estudiada. Sin embargo, esta falta de información no debería alterar nuestros resultados, ya que el tratamiento no fue nuestro enfoque y no se encontraron diferencias significativas en las características clínicas estudiadas entre ambos grupos. Parte de esta investigación se llevó a cabo durante el periodo de pandemia, lo que disminuyó el número de pacientes que acudían de forma regular al servicio de Retina y vítreo del Instituto Nacional de Rehabilitación.

## 16-CONCLUSIONES

Aunque es controversial el papel exacto que juega el polimorfismo rs2010963 y en general otros polimorfismos en el desarrollo y progresión de la retinopatía diabética y edema macular, en nuestro estudio encontramos que la presencia del polimorfismo rs2010963 se encuentra en asociación con la presencia de edema macular.

Aún existe un largo camino para poder entender de forma más clara la influencia de los factores genéticos tanto en la retinopatía diabética como en el edema macular y específicamente son necesarios estudios adicionales para determinar el papel que juega el rs2010963, como factor de riesgo genético en el edema macular.

No se observó una asociación entre el SNP rs833069 y la presencia de edema macular diabético en la población mexicana analizada, una posible explicación sea debido al tamaño de muestra.

Este es el primer trabajo en población mexicana que reporta la asociación del rs2010963 y el riesgo con edema macular. Estos hallazgos concuerdan con informes previos evaluados en poblaciones de los Países Bajos, Taiwán, China, Finlandia, Japón, España y Turquía <sup>41</sup> <sup>40</sup>. Consideramos que es necesario confirmar estos resultados en muestras más grandes. El hallazgo de esta asociación en nuestra población podría sentar las bases para investigaciones futuras relacionadas al componente genético con el edema macular y posteriormente su respuesta al tratamiento, teniendo como resultado un mejor seguimiento a estos pacientes.

## 17- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diabetes. Accessed November 29, 2023. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
2. Panorama de la diabetes.
3. Vista de Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. Accessed December 5, 2023. <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/14832/12416>
4. Encuesta nacional de salud y nutrición 2018-19. Resultados nacionales. Accessed December 5, 2023. <https://www.insp.mx/produccion-editorial/novedades-editoriales/ensanut-2018-nacionales>
5. Barría Fernando MFVJ. *Actualización de La Guía Clínica de Retinopatía Diabética Para Latinoamérica.*; 2016.
6. Ruta LA, Magliano DJ, LeMesurier R, Taylor HR, Zimmet PZ, Shaw JE. Prevalence of diabetic retinopathy in Type 2 diabetes in developing and developed countries. *Diabet Med.* 2013;30(4):387-398. doi:10.1111/DME.12119
7. Varma R, Bressler NM, Doan Q V., et al. Prevalence of and risk factors for diabetic macular edema in the United States. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(11):1334-1340. doi:10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2014.2854
8. Ixcamey M, Palma C. Diabetic macular edema. *Dis Mon.* 2021;67(5). doi:10.1016/J.DISAMONTH.2021.101138
9. Klein R, Klein BEK, Moss SE. The Wisconsin epidemiological study of diabetic retinopathy: a review. *Diabetes Metab Rev.* 1989;5(7):559-570. doi:10.1002/DMR.5610050703
10. Manuel Jiménez-Sierra J, Cano-Hidalgo R, Flores-Peredo V, et al. Primer consenso nacional de edema macular diabético First national consensus on diabetic macular edema. Published online 2021. doi:10.24875/RMO.M21000206
11. Crofford OB, Genuth S, Baker L. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT): results of feasibility study. The DCCT Research Group. *Diabetes Care.* 1987;10(1):1-19. doi:10.2337/DIACARE.10.1.1
12. Al-Kateb H, Mirea L, Xie X, et al. Multiple variants in vascular endothelial growth factor (VEGFA) are risk factors for time to severe retinopathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC genetics study. *Diabetes.* 2007;56(8):2161-2168. doi:10.2337/DB07-0376
13. Wright AD, Dodson PM. Medical management of diabetic retinopathy: fenofibrate and ACCORD Eye studies. *Eye (Lond).* 2011;25(7):843-849. doi:10.1038/EYE.2011.62
14. Tetikoğlu M, Yüksel Z, Aktas S, Sağdik HM, Özcura F. VEGF-A gene polymorphisms and responses to intravitreal ranibizumab treatment in patients with diabetic macular edema. *Int Ophthalmol.* 2018;38(6):2381-2388. doi:10.1007/S10792-017-0738-5

15. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Accessed November 15, 2023. <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/informes.php>
16. Browning DJ, Stewart MW, Lee C. Diabetic macular edema: Evidence-based management. *Indian J Ophthalmol.* 2018;66(12):1736-1750. doi:10.4103/IJO.IJO\_1240\_18
17. Varma R, Paz SH, Azen SP, et al. The Los Angeles Latino Eye Study: design, methods, and baseline data. *Ophthalmology.* 2004;111(6):1121-1131. doi:10.1016/J.OPHTHA.2004.02.001
18. Awata T, Kurihara S, Takata N, et al. Functional VEGF C-634G polymorphism is associated with development of diabetic macular edema and correlated with macular retinal thickness in type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;333(3):679-685. doi:10.1016/J.BBRC.2005.05.167
19. Diabetic Retinopathy Guidelines – ICO PAAO 2016 [Spanish] - The International Agency for the Prevention of Blindness. Accessed November 15, 2023. <https://www.iapb.org/learn/resources/diabetic-retinopathy-guidelines-ico-paao-2016-spanish/>
20. Roberto Carmona-Moxica L, Hernández-Núñez F. Práctica clínico-quirúrgica Revisión bibliográfica: edema macular diabético, repercusiones y tratamiento Literature review: Diabetic macular edema. Repercussions and treatment. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53(5):600-607.
21. Agarwal A, Soliman MK, Sepah YJ, Do D V., Nguyen QD. Diabetic retinopathy: variations in patient therapeutic outcomes and pharmacogenomics. *Pharmgenomics Pers Med.* 2014;7:399-409. doi:10.2147/PGPM.S52821
22. Massin P, Bandello F, Garweg JG, et al. Safety and efficacy of ranibizumab in diabetic macular edema (RESOLVE Study): a 12-month, randomized, controlled, double-masked, multicenter phase II study. *Diabetes Care.* 2010;33(11):2399-2405. doi:10.2337/DC10-0493
23. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2011;118(4):615-625. doi:10.1016/J.OPHTHA.2011.01.031
24. Palomares-Ordóñez JL, Rojas-Juárez S, Sánchez-Ramos JA, et al. Red de Investigación de Retinopatía Diabética: Retinopatía diabética y edema macular diabético. Artículo de revisión Diabetic Retinopathy Clinical Research Network: Diabetic retinopathy and diabetic macular edema. Review article ARTÍCULO DE HISTORIA Resumen Protocolo A. *Rev Mex Oftalmol.* 2019;93(2):84-97. doi:10.24875/RMO.M18000063
25. Singer M, Liu M, Schlottmann PG, et al. Predictors of Early Diabetic Retinopathy Regression with Ranibizumab in the RIDE and RISE Clinical Trials. *Clin Ophthalmol.* 2020;14:1629-1639. doi:10.2147/OPHT.S247061
26. Do D V., Schmidt-Erfurth U, Gonzalez VH, et al. The DA VINCI Study: phase 2 primary results of VEGF Trap-Eye in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2011;118(9):1819-1826. doi:10.1016/J.OPHTHA.2011.02.018
27. Cai S, Bressler NM. Aflibercept, bevacizumab or ranibizumab for diabetic macular oedema: recent clinically relevant findings from DRCR.net Protocol T. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017;28(6):636-643. doi:10.1097/ICU.0000000000000424

28. Heier JS, Korobelnik JF, Brown DM, et al. Intravitreal Aflibercept for Diabetic Macular Edema: 148-Week Results from the VISTA and VIVID Studies. *Ophthalmology*. 2016;123(11):2376-2385. doi:10.1016/J.OPHTHA.2016.07.032
29. Fong AHC, Lai TYY. Long-term effectiveness of ranibizumab for age-related macular degeneration and diabetic macular edema. *Clin Interv Aging*. 2013;8:467-483. doi:10.2147/CIA.S36811
30. Agarwal A, Ingham SA, Harkins KA, Do Di V., Nguyen QD. The role of pharmacogenetics and advances in gene therapy in the treatment of diabetic retinopathy. *Pharmacogenomics*. 2016;17(3):309-320. doi:10.2217/PGS.15.173
31. Hu L, Gong C, Chen X, Zhou H, Yan J, Hong W. Associations between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms and Different Types of Diabetic Retinopathy Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Diabetes Res*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/7059139
32. Kuo JZ, Wong TY, Rotter JI, Wiggs JL. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2014;132(1):96-107. doi:10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2013.5024
33. Qiu M, Xiong W, Liao H, Li F. VEGF -634G>C polymorphism and diabetic retinopathy risk: a meta-analysis. *Gene*. 2013;518(2):310-315. doi:10.1016/J.GENE.2013.01.018
34. Hagstrom SA, Ying GS, Maguire MG, et al. VEGFR2 Gene Polymorphisms and Response to Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 2015;122(8):1563-1568. doi:10.1016/J.OPHTHA.2015.04.024
35. Yang Y, Andresen BT, Yang K, et al. Association of vascular endothelial growth factor -634C/G polymorphism and diabetic retinopathy in type 2 diabetic Han Chinese. *Exp Biol Med*. 2010;235(10):1204-1211. doi:10.1258/ebm.2010.010102
36. Vailati FB, Crispim D, Sortica DA, Souza BM, Brondani LA, Canani LH. The C allele of -634G/C polymorphism in the VEGFA gene is associated with increased VEGFA gene expression in human retinal tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(10):6411-6415. doi:10.1167/iovs.12-9727
37. Bhagat N, Grigorian RA, Tutela A, Zarbin MA. Diabetic macular edema: pathogenesis and treatment. *Surv Ophthalmol*. 2009;54(1):1-32. doi:10.1016/J.SURVOPHTHAL.2008.10.001
38. Xie XJ, Yang YM, Jiang JK, Lu YQ. Association between the vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms and diabetic retinopathy risk: A meta-analysis. *J Diabetes*. 2017;9(8):738-753. doi:10.1111/1753-0407.12480
39. Abhary S, Burdon KP, Gupta A, et al. Common sequence variation in the VEGFA gene predicts risk of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(12):5552-5558. doi:10.1167/IOVS.09-3694
40. Lu Y, Ge Y, Shi Y, Yin J, Huang Z. Two polymorphisms (rs699947, rs2010963) in the VEGFA gene and diabetic retinopathy: an updated meta-analysis. *BMC Ophthalmol*. 2013;13(1). doi:10.1186/1471-2415-13-56

41. Yang Q, Zhang Y, Zhang X, Li X, Liu J. Association of VEGF Gene Polymorphisms with Susceptibility to Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Horm Metab Res*. 2020;52(5):264-279. doi:10.1055/A-1143-6024
42. Han L, Zhang L, Xing W, et al. The associations between VEGF gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis of 11 case-control studies. *J Diabetes Res*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/805801
43. Hu L, Gong C, Chen X, Zhou H, Yan J, Hong W. Associations between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms and Different Types of Diabetic Retinopathy Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Diabetes Res*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/7059139
44. Chun MY, Hwang HS, Cho HY, et al. Association of vascular endothelial growth factor polymorphisms with nonproliferative and proliferative diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(7):3547-3551. doi:10.1210/JC.2009-2719
45. Gonzalez-Salinas R, Garcia-Gutierrez MC, Garcia-Aguirre G, et al. Evaluation of VEGF gene polymorphisms and proliferative diabetic retinopathy in Mexican population. *Int J Ophthalmol*. 2017;10(1):135. doi:10.18240/IJO.2017.01.22
46. Fang AM, Lee AY, Kulkarni M, Osborn MP, Brantley MA. Polymorphisms in the VEGFA and VEGFR-2 genes and neovascular age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 2009;15:2710. Accessed September 13, 2023. /pmc/articles/PMC2793900/
47. Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(5):1635-1639. doi:10.2337/DIABETES.51.5.1635
48. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. [Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies]. *Gac Sanit*. 2005;19(4):333-341. doi:10.1157/13078029
49. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-564. doi:10.2337/DC11-1909
50. Haines JL, Schnetz-Boutaud N, Schmidt S, et al. Functional candidate genes in age-related macular degeneration: significant association with VEGF, VLDLR, and LRP6. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(1):329-335. doi:10.1167/IOVS.05-0116
51. El-Shazly SF, El-Bradey MH, Tameesh MK. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism prevalence in patients with diabetic macular oedema and its correlation with anti-vascular endothelial growth factor treatment outcomes. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014;42(4):369-378. doi:10.1111/CEO.12182
52. Churchill AJ, Carter JG, Ramsden C, et al. VEGF polymorphisms are associated with severity of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(8):3611-3616. doi:10.1167/IOVS.07-1383

## 18- ANEXOS

### ANEXO 1 Consentimiento Informado



Ciudad de México, a 10 de junio de 2021

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO [versión 1, 10/06/2021]

Título de la Investigación: Asociación entre polimorfismo rs2010963 y rs833069 del gen VEGF-A en paciente con diagnóstico de Edema Macular Diabético en población Mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación

Número Registro INRLGI: \_\_\_\_\_

Nombre del Investigador Principal: Dra. Dalila Rodríguez Juárez

Nombre de la persona que participará en la Investigación: Dra. Giovanna Yaret Montalvo Domínguez

A través de este documento que forma parte del proceso para la obtención del consentimiento informado, me gustaría invitarlo a participar en la investigación titulada: Asociación entre polimorfismo rs2010963 y rs833069 del gen VEGF-A en paciente con diagnóstico de Edema Macular Diabético en población Mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación. Antes de decidir, necesita entender por qué se está realizando esta investigación y en qué consistirá su participación. Por favor tómese el tiempo que usted necesite, para leer la siguiente información cuidadosamente y pregunte cualquier cosa que no comprenda. Si usted lo desea puede consultar con personas de su confianza (Familiar y/o Médico tratante) sobre la presente investigación.

#### 1. ¿Dónde se llevará a cabo esta investigación?

Esta investigación se llevará a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra, específicamente en Oftalmología, Retina y Vítreo y Genética ubicado en sector 8 y tercer piso de Torre de Investigación respectivamente.

#### 2. ¿Cuál es el objetivo de esta investigación?

Esta investigación tiene como objetivo buscar asociación entre los polimorfismos rs2010963 y rs833069 del gen VEGF-A en pacientes con diagnóstico de edema macular diabético en población mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación.

#### 3. ¿Por qué es importante esta investigación?

Dada la alta tasa de morbilidad y el gran costo económico en servicios de salud que supone el Edema macular diabético, la identificación de polimorfismos específicos nos permitiría entender mejor la variabilidad de presentación del edema macular diabético y dirigir de forma más precisa la atención.

1

Formato aprobado en la sesión del mes de abril de 2019 en el Comité de Ética en Investigación





**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional  
de Rehabilitación  
Luis Guillermo Ibarra Ibarra

#### 4. ¿Por qué he sido invitado a participar en esta investigación?

Ha sido invitado a formar parte de esta investigación, porque cumple con las características enlistadas a continuación:

- Pacientes de cualquier género con edad entre 20 y 65 años de edad con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2.
- Diagnóstico de Retinopatía Diabética tratada o no con fotocoagulación panretiniana.
- Diagnóstico de Edema Macular diabético clínico y por Tomografía de Coherencia Óptica.

#### 5. ¿Estoy obligado a participar?

Su participación es voluntaria, anónima y confidencial; no tiene que participar forzosamente. No habrá impacto negativo alguno si decide no participar en la investigación, y no demeritará de ninguna manera la calidad de la atención que reciba en el Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra, en término de sus derechos como paciente.

#### 6. ¿En qué consistirá mi participación y cuánto durará?

Su participación consistirá en lo siguiente:

- Entrevista con médico oftalmólogo sobre antecedentes médicos generales y oftalmológicos. .
- Evaluación Oftalmológica, realizada por médicos oftalmólogos certificados que incluirá: toma de agudeza visual y capacidad visual, biomicroscopia de segmento anterior, tonometría de contacto, fundoscopia bajo dilatación farmacológica, toma de tomografía de coherencia óptica.
- Toma de muestra de sangre periférica, por servicio de enfermería del Instituto Nacional de Rehabilitación o por personal de laboratorio de Oncogenómica del Instituto Nacional de Medicina Genómica. Dicha muestra de sangre servirá para la extracción de ADN y posterior determinación de la presencia o ausencia de polimorfismos de interés.

Todos los procedimientos anteriormente mencionados se realizarán en una única visita con una duración aproximada de 30 minutos.

Si está de acuerdo en participar, le pediremos que escriba su nombre y firme el formato de Consentimiento Informado y firme al final del mismo.

2

Formato aprobado en la sesión del mes de abril de 2019 en el Comité de Ética en Investigación





**7. ¿Cuáles son los posibles beneficios de formar parte de esta investigación?**

- Los polimorfismos en el gen VEGF-A C-634G rs2010963 y rs833069 se han asociado a retinopatía diabética previamente en la literatura, sin embargo, hasta el momento existe poca información sobre la presencia de estos polimorfismos en Edema Macular Diabético en población egipcia, turca y japonesa y nula información de estos en población latina.
- Contribución en la búsqueda de tratamientos específicos para Edema Macular Diabético.

**8. ¿Existe alguna alternativa que pueda proporcionarme mayor beneficio de lo que me propone esta Investigación?**

No aplica. Debido a que no se realiza alguna medida que ofrezca tratamiento en este estudio.

**9. ¿Cuáles son los posibles riesgos de formar parte de esta investigación?**

De acuerdo a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la presente investigación se clasifica como con riesgo mínimo.

- Hematoma o dolor en sitio de toma de muestra

**10. ¿Tendré alguna molestia durante y/o después de mi participación?**

- Hematoma o dolor en sitio de toma de muestra

**11. ¿Recibiré alguna compensación por mi participación?**

No.

**12. ¿Tendrá algún costo para mí participar en esta Investigación?**

Se le informa que los gastos relacionados con esta investigación que se originen a partir del momento en que, voluntariamente, acepta participar en la misma, no serán pagados por Usted. En el caso de que existan gastos adicionales originados por el desarrollo de esta investigación, serán cubiertos por el presupuesto de la misma.

Es importante comentarle que los gastos y/o cuotas que se generen como paciente del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, que no tengan ninguna relación con la presente Investigación, deberán ser pagados por Usted.

**13. Una vez que acepte participar ¿Es posible retirarme de la Investigación?**

Se le informa que usted tiene el derecho, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación de dejar de participar en la presente investigación, sin que esto disminuya la atención y calidad o se creen prejuicios para continuar con sus tratamientos y la atención que como paciente le otorga el Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra. Únicamente avisando a alguno de los investigadores su decisión.

**14. ¿En qué casos se me puede suspender de la Investigación?**

- Si usted no acepta las condiciones aquí propuestas y decide no firmar el consentimiento informado.
- Si decide cancelar su participación en los meses subsecuentes.

**15. ¿Qué sucede cuando la Investigación termina?**

Los resultados, de manera anónima, podrán ser publicados en revistas de investigación científica o podrán ser presentados en congresos.

Es posible que su información médica y genética pueden ser usadas para otros proyectos de investigación relacionados, previa revisión y aprobación por los Comités de Investigación y de Ética en Investigación.

**16. ¿A quién puedo dirigirme si tengo alguna complicación, preocupación o problema relacionado con la Investigación?**

Cualquier duda, preocupación o queja acerca de algún aspecto de la investigación o de la forma en que he sido tratado durante el transcurso de la misma, por favor contacte a los investigadores principales:

Dra. Giovanna Yaret Montalvo Domínguez 55591000 ext 18131





**Aclaraciones:**

- a) Esta investigación ha sido revisada y aprobada por el Comité de Investigación y Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, que son independientes al grupo de investigadores, para proteger sus intereses.
- b) Su decisión de participar en la presente Investigación es completamente voluntaria.
- c) En el transcurso de la Investigación, usted podrá solicitar información actualizada sobre la misma, al investigador responsable.
- d) La información obtenida en esta investigación, utilizada para la identificación de cada participante será mantenida con estricta confidencialidad, conforme la normatividad vigente.
- e) Se le garantiza que usted recibirá respuesta a cualquier pregunta, duda o aclaración acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios u otros asuntos relacionados con la presente investigación.
- f) Se hace de su conocimiento que existe la disponibilidad de tratamiento médico y la indemnización a que legalmente tendría derecho por parte del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, solamente en el caso de sufrir daños directamente causados por la Investigación.
- g) En caso de que sea usted padre/tutor, o representante legal de un menor de edad o de una persona incapaz de tomar la decisión o firmar este documento, sírvase firmar la presente Carta de Consentimiento Informado dando su autorización.
- h) En el caso de que el participante en la investigación se trate de un menor a partir de los 6 años, por favor de lectura al Asentimiento Informado anexo a este documento, para que el menor lo comprenda y autorice.
- i) Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado.
- j) Se le comunica que esta Carta de Consentimiento Informado se elabora y firma en dos ejemplares originales, se le entregará un original y el otro lo conservará el investigador principal.

**FIRMA DE CONSENTIMIENTO**  
**[versión X, fecha dd/mm/20XX]**

Yo, \_\_\_\_\_, manifiesto que fui informado (a) del propósito, procedimientos y tiempo de participación y en pleno uso de mis facultades, es mi voluntad participar en esta investigación titulada Asociación entre polimorfismo rs2010963 y rs833069 del gen VEGF-A en paciente con diagnóstico de Edema Macular Diabético en población Mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación.

No omito manifestar que he sido informado(a) clara, precisa y ampliamente, respecto de los procedimientos que implica esta investigación así como de los riesgos a los que estaré expuesto ya que dicho procedimiento es considerado de mínimo riesgo.

He leído y comprendido la información anterior, y todas mis preguntas han sido respondidas de manera clara y a mi entera satisfacción, por parte de \_\_\_\_\_

5



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional  
de Rehabilitación  
Las Colinas Health Center

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA DEL PARTICIPANTE**

**PADRE/TUTOR O REPRESENTANTE LEGAL**  
(según aplique, se requiere identificación)

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR  
PRINCIPAL**

**TESTIGOS**

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA**  
**PARENTESCO**  
**DOMICILIO**

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA**  
**PARENTESCO**  
**DOMICILIO**

**Nota:** Los datos personales contenidos en la presente Carta de Consentimiento Informado, serán protegidos conforme a lo dispuesto en las Leyes Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública, General de Transparencia y Acceso a la Información Pública y General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados y demás normatividad aplicable en la materia.

6

*Formato aprobado en la sesión del Comité de Ética de abril de 2019 en el Comité de Ética en Investigación*



## ANEXO 2 Carta de aceptación

	<b>SALUD</b> SECRETARÍA DE SALUD		<b>Instituto Nacional de Rehabilitación</b> Luis Guillermo Ibarra Ibarra	Comité de Investigación 20 CI 09 013 029
				INRIGI/CI/359/23
				Ciudad de México a 01 de agosto de 2023
<b>DRA. DALILA RODRIGUEZ JUÁREZ</b> INVESTIGADOR PRINCIPAL PRESENTE				
En respuesta a la solicitud que usted envió a este comité para la revisión del proyecto de investigación titulado: <b>Asociación entre polimorfismos rs2010943 y rs833069 del gen VEGF-A en pacientes con diagnóstico de Edema Macular Diabético en población Mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra</b> , le informo que este Comité de Investigación emite el siguiente dictamen:				
Estatus del proyecto:	<b>APROBADO</b>			
Número de registro definitivo:	<b>INRIGI 86/23</b>			
Investigador principal:	<b>Dalila Rodríguez Juárez</b>			
Investigadores asociados:	<b>Giovanna Yaref Montalvo Domínguez Rafael Velázquez Alberto Hidalgo Bravo</b>			
De acuerdo con los datos declarados en el cronograma de actividades del proyecto de investigación, <b>el término de la vigencia es el 01 de agosto de 2024.</b>				
Le recordamos que es requisito informar los avances de su investigación, así como cualquier publicación que se origine de la misma o cualquier otro asunto relacionado con el proyecto aprobado en los meses <b>junio y diciembre</b> , en el formato <b>ROI-PR-DI-04</b> Hoja de Seguimiento de Protocolos de Investigación, el cual se encuentra disponible en la página electrónica del INRIGI.				
En el caso de los protocolos que incluyan pacientes, un requisito adicional es dar cumplimiento al procedimiento: <b>Evaluación de Satisfacción del Paciente</b> participante en protocolo de investigación que se encuentra disponible en la página del INR, en la sección de documentos ISO, en el apartado de Investigación y cuyos resultados deberán presentarse en tiempo y forma según lo establecido.				
Si se trata de un protocolo con financiamiento de la industria, éste deberá contar con convenio administrativo, el cual debe ser sancionado por el área jurídica de este Instituto.				
Avenida México Noctambulo Núm. 208, Colonia Arzobispo de Guadalupe, CP. 04308, Alameda Tlalpa, Ciudad de México. Tel: (55) 5999 18 00 ext. 18002, 18001 <a href="http://www.gob.mx/inr.gob.mx">www.gob.mx/inr.gob.mx</a>				 <b>2023</b> <b>Francisco</b> <b>VIBA</b>



1/2

Si se trata de un estudio clínico deberá establecer un **Plan de Mitigación del Riesgo** a los sujetos de investigación, evaluando métodos alternativos de seguridad para el seguimiento del protocolo de investigación, de acuerdo a las **Medidas extraordinarias en relación a Estudios Clínicos ante la Pandemia de COVID-19** publicadas por COFEPRIS y le sugerimos consulte en: <https://www.gob.mx/cofepris/es/articulos/medidas-extraordinarias-en-relacion-a-estudios-clinicos-ante-la-pandemia-de-covid-19?idcom=es>.

Agradezco su contribución y tengo la seguridad de que su investigación se traducirá en aportaciones científicas relevantes reflejadas en publicaciones de alto impacto.

Aprovecha la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

**DR. LUIS CAMILO RÍOS CASTAÑEDA**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN**

Carta de aprobación del protocolo:

**INRIGI 86/23 Asociación entre polimorfismos rs2010963 y rs833069 del gen VEGF-A en pacientes con diagnóstico de Edema Macular Diabético en población Mexicana en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.**



### **ANEXO 3 Descripción de Procedimientos**

- 1- Se realiza búsqueda bibliográfica de Edema Macular diabético y estudios genéticos relacionados. Se redacta proyecto con base en la pregunta de investigación y consentimiento informado.
- 2- Se organiza equipo de trabajo y se inicia reclutamiento de pacientes. Una vez identificados los pacientes que cumplan los criterios de inclusión se les invitó a participar y se firmó consentimiento informado.
- 3- Se realiza exploración oftalmológica habitual, un breve interrogatorio y se toma muestra de sangre periférica.

Para la exploración oftalmológica: se evaluará agudeza visual y capacidad visual mediante la cartilla de sellen, posteriormente se realizará la exploración oftalmológica con lámpara de hendidura evaluando superficie ocular, con la previa aplicación de tetracaína al 0.5% y tinción de fluoresceína para evaluar superficie ocular y tomar presión intraocular mediante tonometría de Goldman. Evaluando las características del segmento anterior y valoración de segmento posterior mediante lente Superfield. En los casos que ameriten se realizara tomografía de coherencia óptica de región macular con el equipo Heidelberg Spectralis.

Para la toma de sangre periférica: Se identificará mediante palpación el sitio a puncionar en el antebrazo de cualquiera de los dos brazos, se limpia con un antiséptico (alcohol isopropílico), se coloca una banda elástica alrededor de la parte superior del brazo con el fin de aplicar presión en la zona. Posteriormente se introduce aguja en la vena o vacutainer. Se coloca sangre en un tubo morado de 4 ml y en tubo amarillo de 6 ml.

4- Extracción de ADN, preparación de placas. Estos procedimientos se realizaron en laboratorios de INMEGEN como se describe en el Anexo 4.

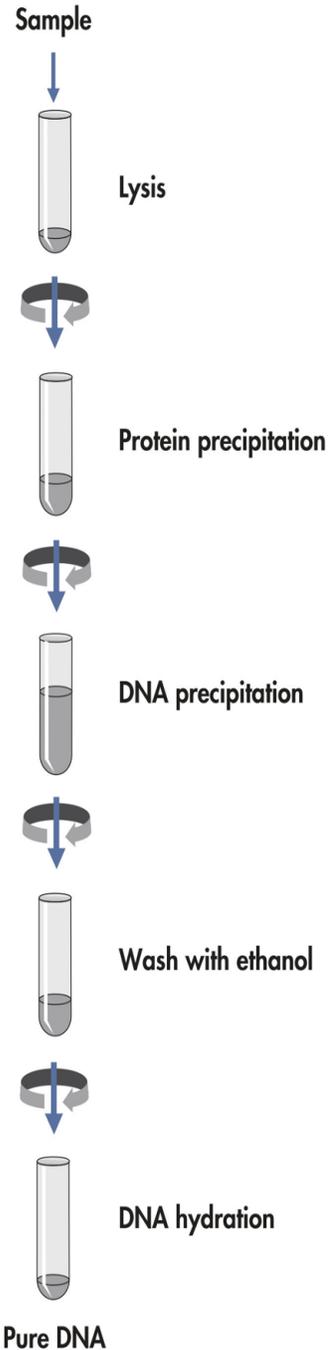
Una vez que se encuentra el tubo morado con la muestra de sangre periférica, se puede observar separación de los eritrocitos y del suero. EL suero se resguarda en otros tubos marcados y los glóbulos rojos son los que se inicia a trabajar para la extracción del ADN, la cual se realizó con el kit PUREGEN.

## ANEXO 4. Protocolo de extracción de ADN.

### “Protocolo PUREGEN de extracción de ADN de sangre completa”

- a) Administrar 30 ml de solución de lisis RBC en un tubo de 50 ml. Adicionar la sangre y mezclar con inversión lenta del tubo.
- b) Incubar por 5 min a temperatura ambiente (15–25°C). Invertir gentilmente 3 veces durante la incubación.
- c) Centrifugar por 2 min a 2000 rpm hasta obtener pellet de células blancas.
- d) Cuidadosamente retirar el sobrenadante, dejando menos de 200 µl del líquido residual y el pellet.
- e) Mezclar vigorosamente mediante vórtex por 10 segundos para suspender de nuevo el pellet en el líquido residual. La agitación facilita mucho la lisis celular en el siguiente paso. El pellet debe de dispersarse por completo una vez que se haya agitado en el vórtex.
- f) Adicionar 3.33 ml de solución precipitadora de proteínas. Adicionar también 10 ml de solución de lisis celular y vortexear vigorosamente durante 20 segundos para permitir la lisis y precipitar las proteínas.
- g) Centrifugar por 6 min a 2000 revoluciones las proteínas precipitadas deberían formar un pellet adherido y oscuro. Si el pellet proteico no está suficientemente adherido incubar en hielo durante 5 minutos y volver a centrifugar.

### Puregene DNA Procedure



- h) Administrar 10 ml de isopropanol en un tubo limpio de 50 ml y depurar sobrenadante del paso previo. Asegurarse que el pellet no está suelto mientras tanto.
- i) Mezclar por inversión gentil al menos 50 veces.
- j) Centrifugar por 3 min a 2000 rpm. El DNA será visible en forma de un pellet pequeño blanquecino.
- k) Cuidadosamente retirar el sobrenadante y drenar todo el tubo invertido y sobre papel absorbente por al menos 1 minuto, teniendo cuidado de que el pellet se mantenga aun en el tubo.
- l) Adicionar 10 ml de etanol al 70%.
- m) Centrifugar por 1 min a 2000 rpm.
- n) Cuidadosamente retirar el sobrenadante, drenar todo el tubo invertido y sobre papel absorbente por al menos 5 minutos, teniendo cuidado de que el pellet se mantenga aun en el tubo. El pellet debe estar suelto. Evitar el sobre secado del pellet de ADN ya que dificultaría su disolución.
- o) Adicionar 1 ml de solución hidratante de ADN y vortexear por 5 segundos a velocidad media.
- p) Incubar a 65°C por 1 hora para disolver el ADN.
- q) Incubar en habitación durante la noche con movimiento gentil. Centrifugar brevemente y colocar en tubo de almacenamiento.

Una vez que se ha finalizado la extracción se realizó una cuantificación de ADN con el equipo de nanoespectrofotometría Nanodrop 2000c. Una vez cuantificada se realiza cálculo para hacer preparaciones a dilución de 100 microgramos y a 5 microgramos. Las diluciones a 5 microgramos son las que se utilizarán para la preparación de las placas para PCR-RT.