



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

ANÁLISIS DE LONGITUD RELATIVA DE TELÓMEROS EN
LEUCOCITOS DERIVADOS DE PACIENTES CON RETINOPATÍA
DIABÉTICA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:
DRA. ALEJANDRA GONZÁLEZ DE LA TORRE

TUTOR:
DR. ALBERTO HIDALGO BRAVO
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



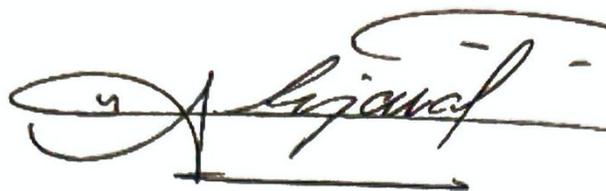
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

**ANÁLISIS DE LONGITUD RELATIVA DE TELÓMEROS EN LEUCOCITOS
DERIVADOS DE PACIENTES CON RETINOPATÍA DIABÉTICA**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Alejandra González de la Torre', with a horizontal line underneath.

DRA. ALEJANDRA GONZÁLEZ DE LA TORRE

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Alberto Hidalgo Bravo', with a horizontal line underneath.

DR. ALBERTO HIDALGO BRAVO
TUTOR PRINCIPAL

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Alberto Hidalgo Bravo', with a horizontal line underneath.

DR. ALBERTO HIDALGO BRAVO
ENCARGADO DE LA ENTIDAD ACADÉMICA

ÍNDICE

RESUMEN	2
MARCO TEÓRICO	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	11
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	12
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos.....	13
PACIENTES Y MÉTODOS: POBLACIÓN O UNIVERSO DE ESTUDIO, PERIODO, LUGAR	13
DISEÑO DEL ESTUDIO	¡Error! Marcador no definido.
CRITERIOS DE SELECCIÓN	¡Error! Marcador no definido.
Criterios de inclusión	¡Error! Marcador no definido.
Criterios de eliminación	¡Error! Marcador no definido.
Criterios de exclusión	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	16
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	17
CONSIDERACIONES ÉTICAS	18
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	31

**ANÁLISIS DE LONGITUD RELATIVA DE TELÓMEROS EN LEUCOCITOS
DERIVADOS DE PACIENTES CON RETINOPATÍA DIABÉTICA**

Resumen

La Diabetes Mellitus (DM) es un trastorno metabólico crónico caracterizado por hiperglucemia. La DM se clasifica en Tipo 1 (T1DM) y Tipo 2 (T2DM). T1DM es autoinmune y afecta las células β pancreáticas, mientras que T2DM implica resistencia a la insulina y cambios metabólicos. Ambos tipos aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares y retinopatía diabética (RD), que afecta la visión.

La RD progresa de etapas no proliferativas a proliferativas, caracterizada por el crecimiento anormal de vasos sanguíneos en la retina. Factores de riesgo incluyen duración de la diabetes, hiperglucemia e hipertensión. Vías moleculares como el estrés oxidante y la inflamación están involucradas en su desarrollo.

Los telómeros, repeticiones de DNA en los extremos cromosómicos, juegan un papel en el envejecimiento celular y enfermedades relacionadas con la edad. Su acortamiento, acelerado por factores como el estrés, se ha asociado con enfermedades.

Este estudio buscó identificar las diferencias en las longitudes relativas teloméricas entre pacientes diabéticos con RD y pacientes metabólicamente sanos. Se realizó un estudio prospectivo de febrero de 2021 a junio de 2022, estudiando las características demográficas, agudeza visual y longitud de los telómeros en leucocitos.

Participaron 32 pacientes en el grupo de control y 34 en el grupo con RD. El grupo de control tenía el 59% de mujeres y el grupo RD correspondía al 41%, con medianas de edad de 46.5 y 53 años, respectivamente. Las medianas de las longitudes relativas teloméricas fueron de 0.9650 en el grupo de control y 1.620 en el grupo con RD, la diferencia no alcanzó significancia estadística ($p=0.0935$).

Se requiere un tamaño de muestra mayor para validar las conclusiones y comprender mejor la relación entre las longitudes relativas teloméricas y la RD, así como su implicación clínica.

MARCO TEÓRICO

La Diabetes Mellitus (DM) es caracterizada por la Asociación Americana de la Diabetes (ADA) como un trastorno metabólico crónico con una etiología compleja, que se manifiesta a través de hiperglucemia, es decir, niveles elevados de glucosa en la sangre. Esta condición surge debido a deficiencias en la producción o la desregulación de la señalización adecuada de insulina en el organismo (1). En este contexto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la ADA han establecido una clasificación que abarca varios grupos de DM, incluyendo la Tipo 1 (T1DM), Tipo 2 (T2DM), DM gestacional y otros tipos específicos. Estas categorías abarcan desde defectos genéticos en la función de las células productoras de insulina hasta patologías pancreáticas y efectos inducidos por sustancias químicas o fármacos (2).

La T1DM, conocida como diabetes insulino dependiente, se origina a raíz de un proceso autoinmune que ataca directamente a las células β situadas en los islotes de Langerhans en el páncreas. Es importante destacar que estas células son las principales encargadas de producir insulina en el organismo (3). En contraste, la T2DM, que constituye la forma más prevalente de diabetes, afecta aproximadamente al 90% de todos los pacientes diabéticos a nivel global. Esta variante se caracteriza por hiperglucemia, resistencia a la insulina y una disminución relativa en la producción y secreción de insulina. El resultado de estas alteraciones metabólicas es una menor capacidad de incorporación de glucosa en tejidos específicos como el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo, lo que desencadena un aumento en los niveles de glucosa en la sangre. Además, se

observan modificaciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (4), (5), (6).

La DM es un importante factor de riesgo para desarrollar enfermedades del sistema cardiovascular, debido a que se han identificado alteraciones tanto estructurales y funcionales, de micro y macro vasculatura (7), lo cual incrementa la posibilidad de presentar complicaciones como hipertensión, aterosclerosis, enfermedad coronaria, nefropatía y retinopatía diabéticas (8). Se ha encontrado que las complicaciones del sistema cardiovascular en pacientes diabéticos, es de 1.47 a 1.62 veces en varones, y de 1.55 a 1.68 veces en mujeres más frecuente que en personas sin diabetes (9).

La retinopatía diabética (RD) es una complicación microvascular específica de la diabetes, la cual causa pérdida de la visión en la población en general, en distintos países, afecta a la población en general, incluida la población económicamente activa (10). Pacientes con daño avanzado por RD, tienen una disminución de la calidad de vida, así como una reducción en su bienestar físico, emocional y social, aunado al aumento en el uso de recursos en el cuidado de la salud (11). El Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) subdivide a la retinopatía diabética en no proliferativa y proliferativa. La no proliferativa a su vez se clasifica, depende de la severidad, en mínima, leve, moderada y severa. Una vez que se encuentran características de neovascularización se clasifica en retinopatía diabética proliferativa, que a su vez se divide en tres grados por su severidad: sin características de alto riesgo, con características de alto riesgo y avanzada (12).

Además, se agregaron dos apartados para las retinopatías que ya habían recibido tratamientos previos, sobre todo la fotocoagulación laser pan retiniana, clasificándola, así como; retinopatía diabética modificada por láser y retinopatía diabética modificada por cirugía.

Sin tratamiento, la RD progresa desde estadios leves no proliferativos, hasta llegar a estadios proliferativos, caracterizados por el crecimiento de vasos sanguíneos anormales en la retina neurosensorial. Además, de poder encontrar en cualquier estadio de la enfermedad, un estado exudativo y causar edema macular.

De acuerdo con la prevalencia geográfica de los pacientes con diabetes, la RD representa en general el 30% de los individuos con cualquier tipo de diabetes, solo el 5-10% pueden tener estadios proliferativos donde se amenace la visión (13). Sin embargo, el riesgo individual de presentar RD es del 50-60% en personas con T2DM, y arriba del 90% en los T1DM (14).

Se conocen ciertos factores de riesgo para desarrollar RD, los más importantes son la duración de la diabetes, la hiperglicemia y la hipertensión. Sin embargo, se ha encontrado una gran variación entre la severidad de la presentación de la RD, la hiperglucemia y la hipertensión, debido a que estudios han demostrado que pacientes con pobre control glicémico y/o control de la presión arterial no desarrollan RD (15).

Existen razones que sugieren que la dislipidemia es un factor de riesgo importante para el desarrollo de la RD, esta relación entre dislipidemia, usando los lípidos

usualmente medidos como: el colesterol total y los triglicéridos, no se ha documentado consistentemente en estudios. Sin embargo, ha aumentado la evidencia que las mediciones de lípidos no convencionales como las apolipoproteínas A y B son marcadores importantes para el desarrollo de RD (16). Otros factores de riesgo involucrados con la RD incluyen nefropatía diabética, obesidad, anemia y marcadores sistémicos de inflamación y disfunción endotelial (17).

En términos de factores genéticos, la heredabilidad estimada es de $h^2 = 0.52 \pm 0.31$, para la retinopatía diabética proliferativa, la cual ha sido reportada en pacientes con T1DM (18); sin embargo, también se han encontrado candidatos genómicos, sobre todo epigenéticos como: la metilación proteína TXNIP que interactúa con tiorredoxina (19), el gen MMP-9 (20), la metilación del receptor activado por proliferadores peroxisomales alfa (21) para la asociación de RD en pacientes con T2DM (22).

Búsquedas extensas han dado información acerca de los mecanismos fisiopatológicos dentro de las vías moleculares de la RD. Vías metabólicas desencadenadas por hiperglucemia en diabetes, como la del poliol y la vía de la hexosamina, la síntesis de novo del diacilglicerol por la protein cinasa C, y la producción de radicales libres y productos de la glicosilación avanzada, las cuales pueden ser fundamentales para el desarrollo de la RD (23). Además, se ha evidenciado un aumento en la neurodegeneración, neuroinflamación y un aumento en el sistema renina-angiotensina-aldosterona las cuales forman parte importante

para el desarrollo de RD (24). Además, la producción de especies reactivas de oxígeno por el estrés causado en el retículo endoplásmico se encuentra involucrado en la patogénesis de la RD. El estrés del retículo endoplásmico contribuye al aumento del estrés oxidante, así como a la inflamación y la apoptosis, debido al fallo en la respuesta del desplegamiento de proteínas y con ello disminuir el mismo estrés en el retículo (25). Se teoriza que esta condición esté involucrada en la patogénesis de diferentes enfermedades neuronales en el cerebro y retina, incluidas las primeras etapas de la RD (26). La disfunción mitocondrial conlleva a una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual ha sido respaldado por investigaciones en modelos animales. Estos modelos animales también han mostrado un aumento en las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) mitocondrial y la catalasa, así como un incremento en los marcadores de estrés oxidante, como los carbonilos proteicos. Las altas concentraciones de ROS pueden causar daños en el DNA, incluyen roturas de cadena simple (SSB) y doble cadena (DSB). Estudios en cultivos de fibroblastos humanos han demostrado que las SSB no se reparan eficientemente en los telómeros, lo que resulta en un acortamiento más rápido de estos últimos. Por otro lado, las DSB activan el mecanismo de replicación inducida por ruptura (BIR) para preservar la integridad y la función telomérica. Sin embargo, el uso de BIR puede acortar rápidamente los telómeros y aumentar la inestabilidad tanto en los telómeros como en el genoma. El estado de inflamación crónica de baja intensidad (27), aunado con un desequilibrio en el estado óxido reducción (28) provocado por los factores antes mencionados durante la enfermedad, producen un acumulo a lo largo de la vida del individuo, que

se registra en la dinámica de los telómeros de las células troncales hematopoyéticas y sus linajes, los leucocitos periféricos (29).

Los telómeros de los mamíferos están conformados por repeticiones en tándem de secuencias de DNA del hexanucleótido TTAGGG_n, asociado con un complejo proteico denominado shelterina, el cual consta de seis miembros que facilita la formación de una estructura similar a un lazo (bucle T) para proteger los extremos cromosómicos expuestos del DNA teloméricos (27). Estas estructuras se encuentran al final de los cromosomas de eucariotes, los cuales sufren desgaste con cada división celular y su longitud es un indicador del potencial replicativo de las células somáticas (30). Por lo tanto, el acortamiento de los telómeros en las células proliferativas es una característica del envejecimiento fisiológico (31). Diversas investigaciones respaldan la hipótesis de que el desgaste gradual de los telómeros, que parece ser una parte normal del envejecimiento, se acelera en las células que están expuestas a factores estresantes internos o externos, lo que provoca una mayor proliferación celular y condiciones más altas de estrés oxidante (32).

Se tienen registros epidemiológicos en los cuales se han medido la longitud de los telómeros de los leucocitos, con el objetivo de identificar asociaciones con enfermedades relacionadas con el envejecimiento en humanos, de las cuales una gran cantidad de enfermedades relacionadas con el edad y factores de riesgo que predisponen a ellas se han encontrado con la asociación de los telómeros más cortos en leucocitos, por ejemplo, tiene un papel importante en la morbilidad y mortalidad en humanos. Una longitud relativa telomérica comparativamente corto

se asocia con aterosclerosis (33), demencia (34), enfermedad de Huntington (35), Diabetes mellitus tipo 2 (36) y mortalidad cardiovascular (37), (38–40).

Esta relación entre el acortamiento de los telómeros en los leucocitos y el estadio clínico y metabólico de los pacientes con RD se desconoce actualmente y podría de ser de importancia para valorar el estado de inflamación y de estrés oxidante que se encuentra el paciente, y con ello normar una conducta acerca de un mejor control o seguimiento de los mismos pacientes. Debido a la diferencia entre el estado de descontrol metabólico y el estado de la RD.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La RD es una importante causa de discapacidad entre los afectados por DM. Aún no se conocen completamente los mecanismos moleculares subyacentes a la presentación y progresión de la RD. Se ha descrito a la DM como un estado de estrés oxidante constante con una alta producción de especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno pueden ocasionar rupturas de cadena sencilla o doble en el DNA. Cuando las rupturas ocurren en el telómero y no son reparadas de manera adecuada pueden llevar a un acortamiento acelerado del telómero. Hasta la fecha no se conoce como afecta la RD la longitud telomérica. Esta investigación aportará evidencia en relación con el efecto de la RD sobre la longitud telomérica en DNA derivado de leucocitos de sangre periférica.

JUSTIFICACIÓN

La realización de este trabajo de investigación se justifica por la necesidad de comprender la relación entre la longitud relativa de los telómeros y el daño estructural en la retinopatía diabética. Los antecedentes directos que la longitud relativa telomérica, juega un papel importante en la morbilidad y mortalidad en humanos. Una longitud relativa telomérica comparativamente corto se asocia con aterosclerosis demencia, enfermedad de Huntington, Diabetes mellitus tipo 2 y mortalidad cardiovascular. Este entendimiento podría llenar un vacío en el conocimiento identificar factores de riesgo tempranos, impulsar estrategias

terapéuticas personalizadas y contribuir al avance del conocimiento científico. El estudio podría tener un impacto significativo en la mejoría del diagnóstico, tratamiento y calidad de vida de los pacientes, al abordar la pregunta de cuál es el estado de la longitud telomérica y cómo se encuentra en la secuencia patológica de la enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la diferencia entre la longitud relativa del telómero entre individuos diabéticos con retinopatía diabética e individuos metabólicamente sanos del servicio de Oftalmología del Instituto Nacional de Rehabilitación “Luis Guillermo Ibarra Ibarra”?

HIPÓTESIS

Existe una diferencia entre las longitudes relativas del telómero, siendo menor en individuos diabéticos con retinopatía diabética y mayor en individuos sanos del servicio de Oftalmología del Instituto Nacional de Rehabilitación “Luis Guillermo Ibarra Ibarra”

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar si existe una diferencia de la longitud relativa del telómero entre individuos diabéticos con retinopatía diabética e individuos metabólicamente sanos del servicio de Oftalmología del Instituto Nacional de Rehabilitación “Luis Guillermo Ibarra Ibarra”

Objetivos específicos

Describir las características demográficas de los pacientes sanos, así como de los pacientes con retinopatía diabética

Describir las alteraciones oftalmológicas encontradas.

Describir la agudeza visual de los pacientes que presentan retinopatía diabética

Describir la agudeza visual de los pacientes sin retinopatía diabética

Describir la longitud relativa telomérica en pacientes que presentar retinopatía diabética

Describir la longitud relativa telomérica en pacientes sin enfermedad oftalmológica

MATERIAL Y MÉTODOS:

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se invitó a participar a individuos diagnosticados con Diabetes Mellitus Tipo 2 y que tuvieran cualquier estadio de retinopatía diabética el servicio de Oftalmología del Instituto Nacional de Rehabilitación en el periodo de febrero del 2021 a junio del 2022. Todos los procedimientos fueron aprobados por los Comités de Ética en Investigación y de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación. Todos los participantes firmaron un formulario de consentimiento informado. Se incluyeron un total de 34 pacientes y 32 individuos metabólicamente sanos, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión en el periodo de estudio establecido, por lo que el tamaño de muestra se toma a conveniencia del periodo de estudio.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio prospectivo, transversal, observacional y analítico de las longitudes relativas teloméricas de leucocitos derivados de pacientes con retinopatía diabética de febrero del 2021 a junio de 2022.

Análisis de longitud relativa del telómero

Se obtuvieron 5 ml de sangre periférica. El DNA se obtuvo de leucocitos con el Gentra Puregene Blood Kit (Qiagen) según las recomendaciones del fabricante. La calidad y cantidad de DNA se analizó mediante espectrofotometría utilizando un equipo Biodrop (Biodrop). La medición de la longitud relativa de los telómeros (RTL) se realizó mediante PCR en tiempo real (qPCR) utilizando el método y los cebadores descritos por Cawthon (41). Este método obtiene una relación entre las repeticiones teloméricas (T) y un gen de copia única (S, en este caso Albúmina), relación T/S (Ct de T – Ct de S). Esta medida refleja indirectamente la cantidad de repeticiones teloméricas por genoma diploide. Inicialmente se realizó una Curva Estándar con diluciones seriadas para determinar la eficiencia de ambos amplicones. Las reacciones para T y S se realizaron por triplicado, junto con un DNA de referencia de un donante sano como calibrador y controles negativos sin DNA en cada placa. Las reacciones de qPCR se realizaron por triplicado. Se calculó el Ct medio para cada muestra y se repitieron las que mostraban una desviación estándar >0.5. Además, se realizaron Curvas de desnaturalización para cada placa para verificar la presencia de un único amplicón por reacción. La RTL se calculó mediante el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, donde $\Delta\Delta Ct = (\text{relación T/S de muestra desconocida}) - (\text{relación T/S de muestra calibradora})$. Cada reacción de qPCR de 10 μ l contenía:

0,5 μ M de cada cebador, 1X mezcla maestra de qPCR Maxima SYBR Green/ROX (Thermo Scientific) y 15 ng de DNA. Las reacciones de qPCR se realizaron por triplicado, S y T del mismo individuo se ejecutaron en la misma placa junto con el calibrador utilizando un sistema de PCR en tiempo real StepOnePlus (Thermo Scientific).

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

Pacientes diabéticos con cualquier grado de retinopatía diabética y no diabéticos (sanos) que ingresen al servicio de Oftalmología que decidieron participar de manera voluntaria.

Criterios de exclusión

Pacientes que presenten alguna patología ocular como:

- Hipertensión ocular
- Antecedente de oclusión venosa de rama retiniana
- Presencia de inflamación ocular
- Traumatismos oculares
- Tratamiento con radioterapia.
- Pacientes con alteraciones anatómicas retinianas
- Pacientes con cirugías de retina previas, que no sean por retinopatía diabética
- Pacientes embarazadas

Criterios de eliminación

Pacientes que no completen la evaluación oftalmológica.

No se pueda realizar la toma de muestra de sangre.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis estadístico de las características demográficas de los grupos de estudio como; edad, índice de masa corporal, sexo. También se comparó la agudeza visual de ambos grupos estudiados, así como la longitud relativa de telómeros de leucocitos, tanto de los pacientes diagnosticados con retinopatía diabética y los que no tenían diagnóstico de esta. Se realizó un primer análisis de datos de distribución, pruebas de normalidad (Shapiro y Bertlett) entre todas las variables a estudiar. Para las diferencias de variables cualitativas se realizó la prueba de Chi cuadrado (χ^2), Para la recolección se utilizó la base de datos software de Microsoft® Excel Office 2016 y para el análisis de datos el software estadístico GraphPad PRISM y SPSS de IBM.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo de Variable	Unidades
Edad	Numérica Discreta	Años cumplidos
Sexo	Categórica Nominal	Femenino = 0 Masculino = 1
Agudeza visual	Numérico discreto	Cartilla ETDRS logMar 1.0 – 0
Refracción	Numérico continuo	Dioptrías
Biomicroscopia copia segmento anterior	Categórica Dicotómico	Si/No
Biomicroscopia copia segmento posterior	Categórica Dicotómico	Si/No
Hemoglobina glicosilada	Numérico continuo	0-100%
Longitud Telomérica	Numérico continuo	Unidades relativas

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio se fundamenta en las pautas actuales de las guías de ética internacionales vigentes para la realización de protocolos de investigación, respecto a la Declaración de Helsinki cumple los principios ya que la realización del protocolo supera los beneficios a los riesgos, y solo está involucrado personal calificado para la realización de dicho protocolo, así como de proteger la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en el estudio de investigación. Respecto al Informe Belmont que protege la autonomía, es decir la capacidad que tienen de decidir con toda libertad si desean o no participar en el estudio una vez explicados todos los riesgos, beneficios. En México, el protocolo cumple con lo establecido por la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y Protección de Datos Personales, ya que se cuenta con profesionales de la salud a que se refiere el artículo 114 de este Reglamento, con conocimiento y con la trayectoria necesaria para velar por la integridad del ser humano, supervisado por una institución de atención a la salud que actúe conforme a los criterios de autoridades sanitarias competentes y que cuente con los recursos humanos y materiales necesarios, de manera tal que sean garantía del bienestar del sujeto de investigación.

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

RESULTADOS

Se llevó a cabo un estudio que involucró a un total de 66 individuos (ver Tabla 1), de los cuales 32 en el grupo de control, todos los cuales cumplieron con los criterios de inclusión establecidos. Se realizó un análisis de medidas de tendencia central y dispersión, así como pruebas de normalidad (Shapiro y Bertlett), así como pruebas comparativas para datos no paramétricos. Por otro lado, el grupo compuesto de los individuos con retinopatía diabética constó de un total de 34 individuos. En el grupo de control, predominaron las mujeres (59.3%), mientras que en el grupo con retinopatíadiabética hubo una mayor proporción de hombres (58.8%). La mediana de edad fue de 46.5 años para el grupo de control y de 53 años para el grupo con retinopatía diabética, respectivamente.

Los resultados indicaron que el 2% de los pacientes presentaba una retinopatía diabética con características de alto riesgo, mientras que el 31% mostraba una retinopatía diabética modificada por láser. La mayoría de los pacientes (66%) presentó una retinopatía diabética proliferativa avanzada. En contraste, el grupo de control no presentó ninguna alteración en la exploración oftalmológica global (ver Tabla 1)

Tabla 1. Características clínicas de la exploración oftalmológica de los individuos control y con Diabetes Mellitus Tipo 2					
		Recuento de individuos control N (%)	Recuento en individuos con DM N (%)	Chi-cuadrada (χ^2)	Valor P
Sexo	Hombre	13 (40.6)	20 (58.8)	2.184	0.1395
	Mujer	19 (59.3)	14 (41.17)		

Rubeosis OD	No	32 (100)	28 (82.3)	6.212	0.0127
	Si	0	6 (17.6)		
HV OD	No	32 (100)	26 (76.4)	8.568	0.0034
	Si	0	8 (23.5)		
DRT OD	No	32 (100)	19 (55.8)	18.27	<0.0001
	Si	0	15 (44.1)		
Neovasos OD	No	32 (100)	27 (79.4)	7.370	0.0066
	Si	0	7 (20.5)		
DRT OI	No	32 (100)	21 (61.7)	15.24	<0.0001
	Si	0	13 (38.2)		
Neovasos OI	No	32 (100)	20 (58.82)	16.72	<0.0001
	Si	0	14 (41.1)		
Rubeosis OI	No	32 (100)	28 (82.3)	6.212	0.0127
	Si	0	6 (17.6)		
HV OI	No	32 (100)	26 (76.4)	8.568	0.0034
	Si	0	8 (23.5)		

DM: Diabetes Mellitus; OD: Ojo Derecho; OI: Ojo Izquierdo; HV: Hemorragia Vítrea; DRT: Desprendimiento de retina traccional.

En ambos grupos, se le realizó una evaluación de la agudeza visual, se utilizó la escala LogMar, así como una medición de la presión intraocular en milímetros de mercurio (mm Hg), como se muestra en la Tabla 3. Se encontraron diferencias de las agudezas visuales, pero sin cambios en la presión intraocular de ambos ojos, para comparar el grupo control contra el grupo con retinopatía diabética.

Se procedió a medir las longitudes relativas teloméricas en ambos grupos de control. Los resultados revelaron una mediana de 0.9650 unidades relativas para el grupo de control y de 1.620 unidades relativas para los individuos con retinopatía diabética. Sin embargo, los rangos de la longitud relativa observados en ambos grupos fueron de 0.1300-11.14 y 0.3500-6.240 unidades relativas, para el grupo control y el grupo de pacientes respectivamente. Se compararon las medianas mediante U de Mann Whitney, sin embargo, no se encontraron diferencias

estadísticamente significativas $p=0.0519$ (ver Tabla 4 y Figura 1).

Tabla 3. Pruebas para medianas para muestras independientes de agudeza visual, presión intraocular y longitud relativa telomérica del grupo control comparado con el grupo con retinopatía diabética.			
	Control (mediana)	Retinopatía diabética (mediana)	Valor de p. Prueba de U de Mann Whitney muestras independientes
Edad (años)	46.5	53	0.27
IMC	24.24	26.6	0.001
AV OD (LogMar)	0.2	1.3	0.025
AV OI (LogMar)	0.15	1.3	0.024
PIO OD (mmHg)	12.5	12	0.994
PIO OI (mmHg)	13	12	0.480
Longitud relativa telomérica	0.9650	1.620	0.321
AVOD: Agudeza visual ojo derecho; AVOI: Agudeza visual ojo izquierdo; PLOOD: Presión intraocular ojo derecho; PIOOI; Presión intraocular ojo izquierdo.			

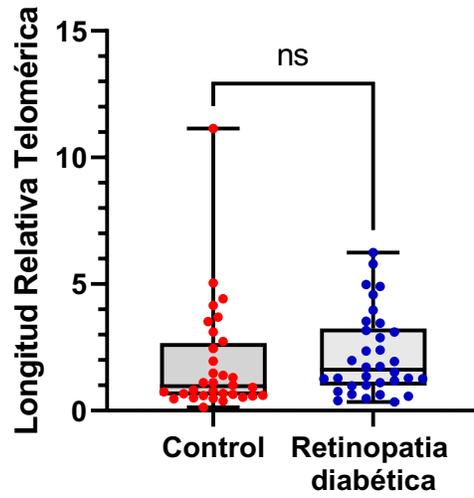


Figura 1. Longitudes relativas teloméricas. Longitud relativa de los telómeros de linfocitos, del grupo control (Rojo) y de los pacientes con retinopatía diabética (Azul). La diferencia no fue estadísticamente significativa $p=0.0519$. Se muestran las medianas y rango intercuartílico.

La edad es uno de los factores reconocidos que pueden tener un impacto en la longitud telomérica. Con base en lo anterior se realizó un análisis de correlación entre la Longitud Relativa del telómero (LRT) con la edad. Adicionalmente, se analizó la correlación entre la LRT y el Índice de Masa Corporal (IMC) debido a la diferencia significativa que se observó entre grupos. La correlación entre LRT y edad por grupo de estudio, controles y casos, no mostró significancia estadística, $r=0.1998$, $p=0.27$ y $r=0.2291$, $p=0.19$, respectivamente. Sin embargo, cuando se analizó esta correlación incluyendo todos los participantes del estudio se observó una correlación positiva, $r=0.2827$, $p=0.021$ (Figura 2). Referente a la correlación con el IMC, por grupo de estudio, controles y casos, no mostró significancia estadística, $r=-0.137$, $p=0.45$ y $r=-0.016$, $p=0.92$, respectivamente. En el caso del IMC el análisis con todos los participantes incluidos permaneció no significativa. Finalmente se realizó una correlación entre en la LRT y la agudeza visual promedio de los dos ojos en el grupo de los pacientes con RD. No se observó una correlación significativa en este análisis, $r=0.025$, $p=0.88$.

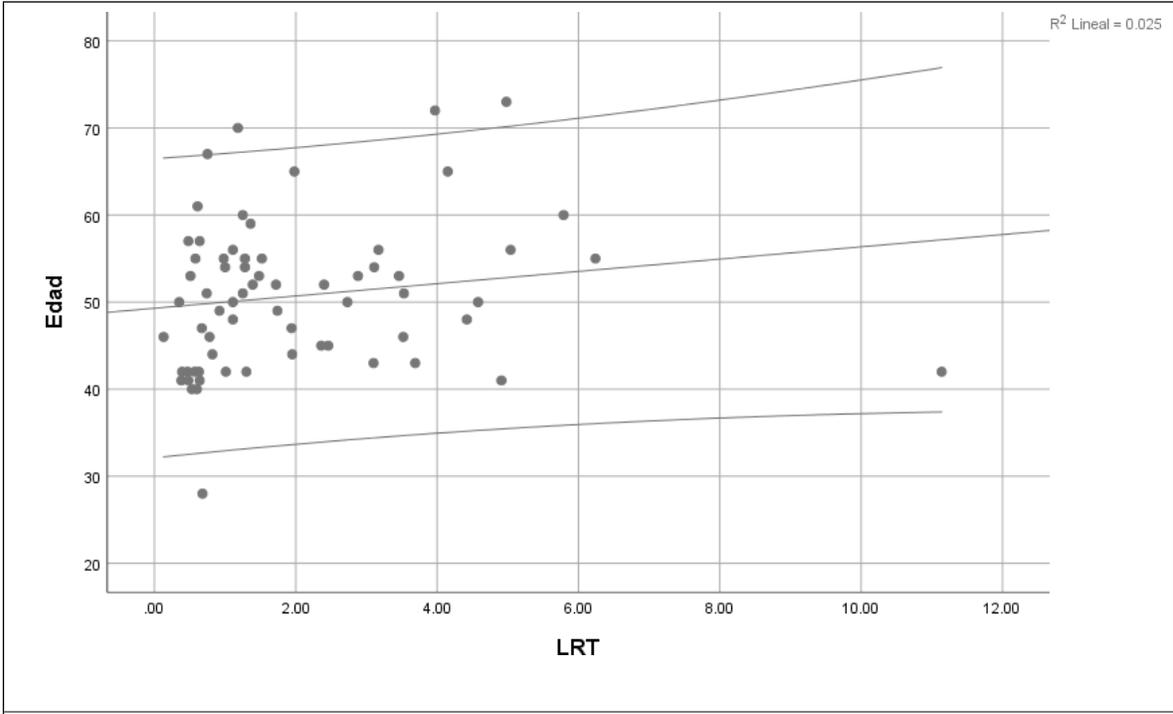


Figura 2. Correlación entre la edad de todos los individuos estudiados y la longitud relativa telomérica (LRT). Coeficiente de correlación de $r=0.2827$, $p=0.021$.

DISCUSIÓN

La retinopatía diabética representa un problema de salud pública en México y constituye una causa significativa de discapacidad. Hasta ahora, se desconocen los factores que determinan la aparición de esta condición en pacientes de diversas edades. Se ha observado previamente que la longitud de los telómeros, estructuras en los extremos de los cromosomas, está relacionada con el avance de ciertas enfermedades crónico-degenerativas. No obstante, existen pocos estudios que hayan explorado la asociación entre la longitud de los telómeros y la retinopatía diabética.

En este estudio, se comparó la longitud relativa de los telómeros (LRT) entre un grupo de pacientes con retinopatía diabética y un grupo de individuos que presentaban un estado metabólicamente saludable. La investigación involucró a dos grupos, el grupo de control y el grupo con retinopatía diabética (RD). Se observó que el grupo con RD tenía una mayor proporción de hombres en comparación con el grupo de control. Además, la mediana de edad en el grupo con RD (53 años) era ligeramente mayor que la del grupo de control (46.5 años), lo que sugiere una posible relación entre la edad y el desarrollo de la retinopatía diabética. La edad es un factor conocido por influir en la longitud de los telómeros, tal como se ha demostrado en investigaciones previas que muestran que los telómeros tienden a acortarse con la edad, considerándolos como indicadores de la senescencia celular incluso en individuos sin enfermedades diagnosticadas. Estos resultados son similares a los reportados por Vaiserman A. et al, Liu P. et al y Lin J et al. (43–46)

La clasificación del grupo de pacientes con RD según el Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) es de particular interés. Los resultados revelaron que la mayoría de los pacientes en este grupo (66%) presentaba una retinopatía diabética en estado avanzado. Además, un 31% mostró una retinopatía diabética modificada por láser, lo que sugiere que algunos pacientes pueden haber sido sometidos a tratamientos previos, este láser fue aplicado cuando mostraron datos de neovascularización y con ello estadios avanzados de la misma retinopatía diabética, como indicación para disminuir la cantidad de sustratos por antiangiogénicos y con ello la proliferación anómala de en los plexos retinianos, este tratamiento está normalizado como tratamiento en cualquier etapa del estado de retinopatía diabética proliferativa (47) La presencia de un 2% de pacientes con características de alto riesgo destaca la diversidad en la gravedad de los casos dentro del grupo con RD y en su mayoría correspondiente al 65 % de pacientes contaban con una retinopatía diabética avanzada, en esta cohorte de casos clínicos, no hubo estadios tempranos de la enfermedad, lo que podría contrastar con los resultados obtenidos.

El hecho de que el grupo de control no presentara ninguna alteración en la exploración oftalmológica global es un descubrimiento significativo, ya que refuerza la validez de este grupo como punto de referencia para comparar los cambios observados en el grupo con RD, la cual corresponde a retinopatía diabética proliferativa avanzada.

En cuanto a las mediciones de agudeza visual y presión intraocular en ambos grupos, a pesar de las diferencias en la agudeza visual entre los grupos, no se

detectaron cambios significativos en la presión intraocular en ninguno de los dos ojos al comparar el grupo de control con el grupo con retinopatía diabética

La medición de la longitud relativa telomérica (LRT) es una pieza clave en este estudio. Se descubrió que la LRT era más alta en el grupo de individuos con retinopatía diabética en comparación con el grupo de control, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística ($p=0.0519$), estos resultados contrastan con los encontrados por el equipo de Svikle Z, et al. (48), donde describen que hay un acortamiento mayor en pacientes con retinopatía diabética en estadios avanzados de la enfermedad. Además, en un estudio publicado por Sharma, R, et al, encontraron una mayor longitud relativa telomérica en individuos sanos, comparados con los pacientes diabéticos, sin o con cualquier grado de retinopatía diabética (49), contrastando estos resultados con los obtenidos en nuestro estudio. Por esto mismo, se exploró la correlación entre la LRT y la edad en los grupos de control y casos por separado. Los resultados indican que, en cada grupo por separado, no se encontraron correlaciones significativas entre la LRT y la edad ($r=0.1998$, $p=0.27$ en el grupo de control, y $r=0.2291$, $p=0.19$ en el grupo con RD). Sin embargo, cuando se analizó la correlación incluyendo a todos los participantes en el estudio, se observó una correlación positiva significativa entre la LRT y la edad ($r=0.2827$, $p=0.021$). Esto sugiere que la edad puede tener un impacto en la longitud telomérica, pero esta relación se hace evidente cuando se considera a todos los participantes en conjunto, lo que podría indicar que otros factores influyen en la LRT en la población de estudio, y esto está acorde con los estudios publicados por Vaiseraman A, et al., donde observaron una relación entre la longitud relativa

telomérica con la edad de los sujetos estudiados (50).

En cuanto a la correlación entre la LRT y el IMC, los resultados muestran que, tanto en el grupo de control como en el grupo con RD, no se encontraron correlaciones significativas entre la LRT y el IMC ($r=-0.137$, $p=0.45$ en el grupo de control, y $r=-0.016$, $p=0.92$ en el grupo con RD). Además, cuando se consideraron a todos los participantes en conjunto, la correlación entre la LRT y el IMC también permaneció no significativa. Estos hallazgos sugieren que, al menos en esta población de estudio, el IMC no parece estar relacionado directamente con la longitud telomérica, lo que respalda la idea de que el IMC y la LRT son dos variables independientes en el contexto de esta cohorte de individuos estudiados, debido a que en otras poblaciones como la descrita por Gielen M (51), se observa una correlación entre el IMC y la longitud relativa telomérica, donde sus resultados muestran que a mayor IMC, menor la longitud relativa telomérica.

Finalmente, se investigó la correlación entre la LRT y la agudeza visual promedio en el grupo de pacientes con RD. Los resultados revelan que no se observó una correlación significativa entre estos dos parámetros ($r=0.025$, $p=0.88$). Esto indica que, al menos en esta muestra, la longitud telomérica no parece estar relacionada con la gravedad de la enfermedad ocular en términos de agudeza visual promedio.

En resumen, este estudio proporciona información valiosa sobre la posible relación entre la longitud de los telómeros, la edad y la retinopatía diabética. Aunque no se encontraron correlaciones significativas entre la LRT y la edad ni el IMC en los grupos por separado, la correlación positiva observada cuando se consideraron todos los participantes en conjunto sugiere que la edad podría tener un impacto en

la longitud telomérica en esta población. Además, la falta de correlación entre la LRT y el IMC y la agudeza visual promedio en esta muestra particular destaca la necesidad de investigaciones adicionales para comprender mejor estas relaciones en el contexto de la salud ocular y el envejecimiento.

CONCLUSIONES

La composición demográfica de los grupos parece tener cierta influencia en los resultados, en el caso de los resultados obtenidos fueron la edad, y el IMC podrían influir en la longitud telomérica relativa como factores independientes al estadio de retinopatía diabética. Dado que la mediana de edad en el grupo con retinopatía diabética es mayor, puede haber una asociación entre la edad y el desarrollo de la enfermedad. Además, las diferencias en la proporción de sexo podrían señalar hacia posibles factores de riesgo específicos. Sin embargo, estas conclusiones son preliminares y deben ser confirmadas con un tamaño de muestra más grande, calculado para retinopatía diabética, un estudio con el tamaño de muestra adecuado debería ser de 1534 individuos, sin embargo, ningún estudio publicado cuenta con este número de pacientes, por lo que el aporte futuro, sería para un posible metaanálisis con el resto de los artículos publicados, mencionados con anterioridad.

Los datos sugieren una diferencia significativa en las longitudes teloméricas entre el grupo de control y el grupo con retinopatía diabética. Aunque estas diferencias pueden ser indicativas de una posible relación entre las longitudes teloméricas y la retinopatía diabética, es importante recordar que los rangos amplios en ambas poblaciones indican una variabilidad considerable. Para confirmar esta relación y entender su implicación clínica, sería necesario aumentar el tamaño de la muestra y realizar análisis estadísticos que se aproximen al tamaño de muestra calculado.

Aunque los resultados actuales son prometedores, la falta de significancia estadística limita las conclusiones que podemos extraer. Aumentar la muestra

permitiría determinar si las diferencias observadas son consistentes y verdaderamente significativas desde un punto de vista estadístico y clínico.

En resumen, el estudio proporciona una base sólida para continuar investigando la relación entre la retinopatía diabética y las longitudes teloméricas, así como la influencia de las características demográficas. Aumentar el tamaño de muestra en ambos grupos es crucial para obtener resultados estadísticamente significativos y clínicamente relevantes. Esto permitirá una comprensión más completa de las relaciones observadas y su potencial implicación en la retinopatía diabética.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marathe PH, Gao HX, Close KL. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *J Diabetes* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2023 Jun 23];9(4):320-4. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1753-0407.12524>
2. WHO Global Report. Global Report on Diabetes. Isbn [Internet]. 2016 [cited 2023 Jun 23];978:11. Available from: http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/index.html%0Ahttp://www.who.int/about/licensing/copyright_form/index.html%0Ahttp://www.who.int/about/licensing/copyright_form/index.html%0Ahttps://apps.who.int/iris/handle/10665/204871%0Ahttp://www.who.int
3. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nature Reviews Endocrinology* 2011 8:4 [Internet]. 2011 Nov 8 [cited 2023 Jul 2];8(4):228-36. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrendo.2011.183>
4. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Med J* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jul 2];27(4):269. Available from: </pmc/articles/PMC3464757/>
5. Ozougwu J, Obimba K, Belonwu C, Unakalamba C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology* [Internet]. 2013;4(4):46-57. Available from: <http://www.academicjournals.org/journal/JPAP/article-abstract/974E7B515872>
6. Lee M seop, Song K duk, Yang H jun, Solis CD. Development of a type II diabetic mellitus. 2012;28(3):205-8.
7. Kilkenny MF, Dunstan L, Busingye D, Purvis T, Reyneke M, Orgill M, et al. Knowledge of risk factors for diabetes or cardiovascular disease (CVD) is poor among individuals with risk factors for CVD. 2017;(Cvd):1-11.
8. Shah AS, Urbina EM. Vascular and Endothelial Function in Youth with Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2017;17(6):36. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11892-017-0869-0>
9. Liu L, Simon B, Shi J, Mallhi AK, Eisen HJ. Impact of diabetes mellitus on risk of cardiovascular disease and all-cause mortality : Evidence on health outcomes and antidiabetic treatment in United States adults. 2016;7(18):449-61.

10. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic Retinopathy. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1005073> [Internet]. 2012 Mar 29 [cited 2023 Jul 4];366(13):1227-39. Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1005073>
11. Fenwick EK, Pesudovs K, Rees G, Dirani M, Kawasaki R, Wong TY, et al. The impact of diabetic retinopathy: understanding the patient's perspective. *British Journal of Ophthalmology* [Internet]. 2011 Jun 1 [cited 2023 Jul 4];95(6):774-82. Available from: <https://bjo.bmj.com/content/95/6/774>
12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Design and Baseline Patient Characteristics: ETDRS Report Number 7. *Ophthalmology* [Internet]. 1991 May 1 [cited 2023 Sep 3];98(5):741-56. Available from: <http://www.aaojournal.org/article/S0161642013380099/fulltext>
13. Zhang X, Saaddine JB, Chou CF, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, et al. Prevalence of Diabetic Retinopathy in the United States, 2005-2008. *JAMA* [Internet]. 2010 Aug 11 [cited 2023 Jul 4];304(6):649-56. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/186384>
14. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, Demets DL. 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* [Internet]. 1984 Apr 1 [cited 2023 Jul 4];102(4):520-6. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaophthalmology/fullarticle/635006>
15. Keenan HA, Costacou T, Sun JK, Doria A, Cavallerano J, Coney J, et al. Clinical Factors Associated With Resistance to Microvascular Complications in Diabetic Patients of Extreme Disease Duration The 50-year Medalist Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2023 Jul 5];30(8):1995-7. Available from: <https://dx.doi.org/10.2337/dc06-2222>
16. Sasongko MB, Wong TY, Nguyen TT, Kawasaki R, Jenkins A, Shaw J, et al. Serum apolipoprotein AI and B are stronger biomarkers of diabetic retinopathy than traditional lipids. *Diabetes Care* [Internet]. 2011 Feb [cited 2023 Jul 5];34(2):474-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21270203/>
17. Sasongko MB, Wong TY, Nguyen TT, Shaw JE, Jenkins AJ, Wang JJ. Novel versus traditional risk markers for diabetic retinopathy. *Diabetologia* [Internet]. 2012 Mar [cited 2023 Jul 5];55(3):666-70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22198262/>

18. Hietala K, Forsblom C, Summanen P, Groop PH. Heritability of Proliferative Diabetic Retinopathy. *Diabetes* [Internet]. 2008 [cited 2023 Jul 5];57(8):2176. Available from: [/pmc/articles/PMC2494680/](#)
19. Pradhan P, Upadhyay N, Tiwari A, P Singh L. Genetic and epigenetic modifications in the pathogenesis of diabetic retinopathy: a molecular link to regulate gene expression. *New Front Ophthalmol* [Internet]. 2016 [cited 2023 Sep 6];2(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28691104/>
20. Kowluru RA, Shan Y, Mishra M. Dynamic DNA methylation of matrix metalloproteinase-9 in the development of diabetic retinopathy. *Laboratory Investigation* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Sep 6];96(10):1040-9. Available from: <http://www.laboratoryinvestigation.org/article/S0023683722011758/fulltext>
21. Zhu Y, Wang X, Zhou X, Ding L, Liu D, Xu H. DNMT1-mediated PPAR α methylation aggravates damage of retinal tissues in diabetic retinopathy mice. *Biol Res* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 Sep 6];54(1):1-13. Available from: <https://biolres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40659-021-00347-1>
22. Perrone L, Matrone C, Singh LP. Epigenetic Modifications and Potential New Treatment Targets in Diabetic Retinopathy. *J Ophthalmol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jul 5];2014. Available from: [/pmc/articles/PMC4137538/](#)
23. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* [Internet]. 2001 Dec 13 [cited 2023 Jul 5];414(6865):813-20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11742414/>
24. Wilkinson-Berka JL, Agrotis A, Deliyanti D. The retinal renin-angiotensin system: roles of angiotensin II and aldosterone. *Peptides (NY)* [Internet]. 2012 Jul [cited 2023 Jul 5];36(1):142-50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22537944/>
25. Kowluru RA, Chan PS. Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res* [Internet]. 2007 [cited 2023 Jul 5];2007. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17641741/>
26. Zhang SX, Sanders E, Fliesler SJ, Wang JJ. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein responses in retinal degeneration. *Exp Eye Res* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jul 5];125:30-40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24792589/>

27. Sharif S, Van der Graaf Y, Cramer MJ, Kapelle LJ, de Borst GJ, Visseren FLJ, et al. Low-grade inflammation as a risk factor for cardiovascular events and all-cause mortality in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 Jul 6];20(1):1-8. Available from: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-021-01409-0>
28. Yan L jun. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: Role of the polyol pathway. *Animal Model Exp Med* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2023 Jul 6];1(1):7-13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29863179/>
29. Peng X, Huang J, Xia S, Yang Y, Dong K. Association of leukocyte telomere length with metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. *J Res Med Sci* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jul 6];26(1). Available from: </pmc/articles/PMC8384009/>
30. Riethman H. Human telomere structure and biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2008 [cited 2023 Jul 6];9:1-19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18466090/>
31. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev* [Internet]. 2008 Apr [cited 2023 Jul 6];88(2):557-79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18391173/>
32. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, Chen W, Kimura M, Lu X, et al. Rise in Insulin Resistance Is Associated With Escalated Telomere Attrition. *Circulation* [Internet]. 2005 May 3 [cited 2023 Jul 6];111(17):2171-7. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.cir.0000163550.70487.0b>
33. Benetos A, Toupance S, Gautier S, Labat C, Kimura M, Rossi PM, et al. Short leukocyte telomere length precedes clinical expression of atherosclerosis the blood-And-muscle model. *Circ Res* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Sep 7];122(4):616-23. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.117.311751>
34. Jenkins EC, Velinov MT, Ye L, Gu H, Li S, Jenkins EC, et al. Telomere shortening in T lymphocytes of older individuals with Down syndrome and dementia. *Neurobiol Aging*. 2006 Jul 1;27(7):941-5.
35. PerezGrovas-Saltijeral A, Ochoa-Morales A, Miranda-Duarte A, Martínez-Ruano L, Jara-Prado A, Camacho-Molina A, et al. Telomere length analysis on leukocytes derived from patients with Huntington

- Disease. *Mech Ageing Dev* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2023 Sep 7];185. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31759995/>
36. Tentolouris N, Nzietchueng R, Cattan V, Poitevin G, Lacolley P, Papazafiropoulou A, et al. White Blood Cells Telomere Length Is Shorter in Males With Type 2 Diabetes and Microalbuminuria. *Diabetes Care* [Internet]. 2007 Nov 1 [cited 2023 Sep 7];30(11):2909-15. Available from: <https://dx.doi.org/10.2337/dc07-0633>
 37. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet* [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2023 Sep 7];361(9355):393-5. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S0140673603123847/fulltext>
 38. Satoh M, Ishikawa Y, Takahashi Y, Itoh T, Minami Y, Nakamura M. Association between oxidative DNA damage and telomere shortening in circulating endothelial progenitor cells obtained from metabolic syndrome patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* [Internet]. 2008 Jun [cited 2023 Jul 6];198(2):347-53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17983621/>
 39. Adaikalakoteswari A, Balasubramanyam M, Mohan V. Telomere shortening occurs in Asian Indian Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* [Internet]. 2005 Sep [cited 2023 Jul 6];22(9):1151-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16108841/>
 40. Obana N, Takagi S, Kinouchi Y, Tokita Y, Sekikawa A, Takahashi S, et al. Telomere shortening of peripheral blood mononuclear cells in coronary disease patients with metabolic disorders. *Intern Med* [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2023 Jul 6];42(2):150-3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12636233/>
 41. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2023 Sep 7];37(3):e21-e21. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/nar/gkn1027>
 42. Vyas CM, Ogata S, Reynolds CF, Mischoulon D, Chang G, Cook NR, et al. Telomere length and its relationships with lifestyle and behavioural factors: variations by sex and race/ethnicity. *Age Ageing* [Internet]. 2021 [cited 2023 Sep 7];50:838-46. Available from: <https://academic.oup.com/ageing/article/50/3/838/5916624>
 43. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet* [Internet]. 2020 Jan 21 [cited 2023 Sep 4];11:630186. Available from: [/pmc/articles/PMC7859450/](https://pmc/articles/PMC7859450/)

44. Liu P, Zhang Y, Ma L. Telomere length and associated factors in older adults with hypertension. *J Int Med Res* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2023 Sep 4];47(11):5465-74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31662013/>
45. Lin J, Epel E, Cheon J, Kroenke C, Sinclair E, Bigos M, et al. Analyses and comparisons of telomerase activity and telomere length in human T and B cells: Insights for epidemiology of telomere maintenance. *J Immunol Methods* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2023 Sep 4];352(1-2):71. Available from: </pmc/articles/PMC3280689/>
46. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet.* 2021 Jan 21;11:630186.
47. Evans JR, Michelessi M, Virgili G. Laser photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2014 Nov 24 [cited 2023 Sep 4];2014(11). Available from: </pmc/articles/PMC6823265/>
48. Svikle Z, Pahirko L, Zariņa L, Baumanė K, Kardonaite D, Radzeviciene L, Daugintyte-Petrusiene L, Balciuniene VJ, Verkauskiene R, Tiščuka A, Rovite V, Sjakste N, Sokolovska J. Telomere Lengths and Serum Proteasome Concentrations in Patients with Type 1 Diabetes and Different Severities of Diabetic Retinopathy in Latvia and Lithuania. *J Clin Med.* 2022 May 13;11(10):2768. doi: 10.3390/jcm11102768. PMID: 35628895; PMCID: PMC9146024.
49. Sharma, R.; Gupta, A.; Thungapathra, M.; Bansal, R. Telomere mean length in patients with diabetic retinopathy. *Sci. Rep.* 2015, 5, 18368
50. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet.* 2021 Jan 21;11:630186. doi: 10.3389/fgene.2020.630186. PMID: 33552142; PMCID: PMC7859450.
51. Gielen M, Hageman GJ, Antoniou EE, Nordfjall K, Mangino M, Balasubramanyam M, de Meyer T, Hendricks AE, Giltay EJ, Hunt SC, Nettleton JA, Salpea KD, Diaz VA, Farzaneh-Far R, Atzmon G, Harris SE, Hou L, Gilley D, Hovatta I, Kark JD, Nassar H, Kurz DJ, Mather KA, Willeit P, Zheng YL, Pavanello S, Demerath EW, Rode L, Bunout D, Steptoe A, Boardman L, Marti A, Needham B, Zheng W, Ramsey-Goldman R, Pellatt AJ, Kaprio J, Hofmann JN, Gieger C, Paolisso G, Hjelmborg JBH, Mirabello L, Seeman T, Wong J, van der Harst P, Broer L, Kronenberg F, Kollerits B, Strandberg T,

Eisenberg DTA, Duggan C, Verhoeven JE, Schaakxs R, Zannolli R, Dos Reis RMR, Charchar FJ, Tomaszewski M, Mons U, Demuth I, Iglesias Molli AE, Cheng G, Krasnienkov D, D'Antono B, Kasielski M, McDonnell BJ, Ebstein RP, Sundquist K, Pare G, Chong M, Zeegers MP; TELOMAAS group. Body mass index is negatively associated with telomere length: a collaborative cross-sectional meta-analysis of 87 observational studies. *Am J Clin Nutr*. 2018 Sep 1;108(3):453-475. doi: 10.1093/ajcn/nqy107. PMID: 30535086; PMCID: PMC6454526.