

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

11234

INFLUENCIA DE LOS FACTORES INMUNOGENÉTICOS EN LA  
APARICIÓN TEMPRANA DE RETINOPATÍA DIABÉTICA  
PROLIFERATIVA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS NO  
INSULINO DEPENDIENTES.

**ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGÍA**

ASOCIACIÓN PARA EVITAR LA CEGUERA EN MÉXICO

276681

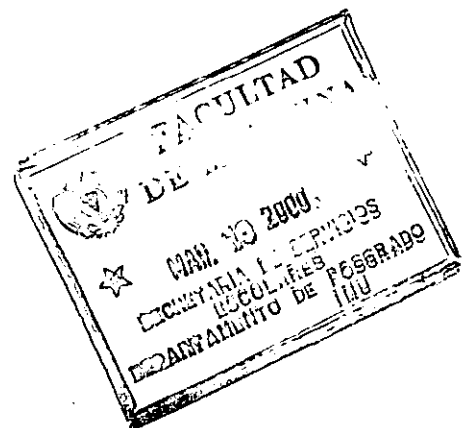
DRA. GABRIELA LOPEZCARASA HERNÁNDEZ.

DR. RUBÉN CÁRDENAS HERNÁNDEZ.

DR. HUGO QUIROZ MERCADO.

DR. JULIO GRANADOS.

2000





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.

Dra. Gabriela Lópezcarasa Hernández. Residente de tercer año de oftalmología en la Asociación para evitar la ceguera en México, Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes. Vicente García Torres #46, San Lucas Coyoacán.

Dr. Rubén Cárdenas Hernández. Becario del servicio de Retina de la Asociación para evitar la ceguera en México.

Dr. Hugo Quiróz Mercado. Jefe del servicio de Retina de la Asociación para evitar la ceguera en México.

Dr. Julio Granados. Jefe del departamento de Inmunogenética del Instituto Nacional de Nutrición.

## RESUMEN

Objetivo: Correlacionar la aparición temprana de Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP) en pacientes mexicanos con Diabetes Mellitus No Insulino Dependientes (DMNID) con la predisposición genética a desarrollar esta complicación y analizar las frecuencias génicas del locus HLA DR (Clase II del CMH) en la susceptibilidad al desarrollo de RDP. Material y Métodos: Se estudiaron 298 pacientes mestizos mexicanos con DMNID a los cuales se les extrajo DNA de sangre periférica amplificando las regiones HLA DR-B1, B3, B4 y B5. La incidencia genética se comparó con un grupo control de 198 pacientes sin RDP apareados por etnicidad. Se utilizaron pruebas no paramétricas para el estudio estadístico. Resultados: El grupo de RDP no mostró prevaencia para HLADR2 comparado con grupo control ( $p=0.004$ ). Este grupo mostró un aumento en la prevaencia de HLADR4 y DR8. Conclusion: El alelo HLADR2 confiere protección al desarrollo de RDP en mexicanos con DMNID.

## SUMMARY

Purpose: To correlate the early onset of PDR in Mexican patients with NIDDM with genetic predisposition to develop this complication and to analyze the genetic incidence of HLA-DR locus(MHC class II) with the predisposition to develop PDR. Patients and Methods: We study 298 patients mestizos Mexican patients with NIDDM to which we extract DNA from peripheral blood and amplified HLA DRB1,B3,B4 and B5. The genetic incidence was compare with a control group of patients without PDR ethnically matched. The statistical meaning was established with non parametric tests. Results: The group of patients with PDR shows no prevalence of HLADR2 compare with the control group( $p=0.004$ ).The study group showed an increase of HLADR4 and DR8. Conclusion: The absence of HLADR2 in diabetic Mexican population is associated with the early onset of RDP.

## INTRODUCCION

La Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID) es un de los principales problemas de salud de nuestro país. De acuerdo a los datos obtenidos en 1993, en la Encuesta Nacional sobre Enfermedades Crónicas, 8% de los Mexicanos mayores de 20 años tienen DMNID. La magnitud del problema es aún mayor en algunos subgrupos de población. Uno de cada cinco Mexicanos mayores de 55 años están afectados por la enfermedad. En México, este padecimiento es la causa más frecuente de ceguera, amputaciones, e insuficiencia renal crónica y se encuentra dentro de las primeras cinco causas de muerte, hospitalización, incapacidad temporal e invalidez. Así la Diabetes Mellitus tiene graves repercusiones socioeconómicas para el país, tanto por los costos de su atención como por la incapacidad de una gran cantidad de sujetos económicamente productivos. (I,II)

La Diabetes Mellitus es una enfermedad de gran impacto socioeconómico en México, siendo una causa importante de ceguera legal, con una prevalencia de 6 a 8%. Se calcula que en México existen 14 millones de diabéticos; reportándose una prevalencia global del 7% en pacientes mayores de 40 años. El riesgo de desarrollar Retinopatía Diabética es de 78% en pacientes con DMNID después de los 15 años de su diagnóstico, siendo ésta la principal causa de ceguera hasta en el 50% de los casos. (XI)



FOTO 1

Retinopatía Diabética  
Proliferativa

Paciente con DMNID

Desafortunadamente, se prevé que la magnitud del problema aumentará en la siguiente década. La prevalencia de la enfermedad se ha duplicado en los últimos 20 años y el mal se presenta a edades más tempranas. Más del 50% de la población tiene un familiar directo afectado, lo que sugiere que, en poco tiempo, la mayoría de los Mexicanos tendrán una notable predisposición genética para la aparición de ésta disfunción. (III, IV)

El término Retinopatía Diabética se refiere a las alteraciones vasculares, como son la pérdida de pericitos, la formación de microaneurismas y la neovascularización retiniana. Esta complicación es la que más prevalece a largo plazo y la principal causa de ceguera en las personas menores de 65 años en la mayoría de los países. (V)

BIBLIOTECA CENTRAL

La Retinopatía no se presenta con la misma severidad en todos los pacientes diabéticos. Algunos individuos con un control aparentemente eficaz de la glucemia desarrollan complicaciones rápidamente, mientras que otros, con un mal control, no llegan a presentarlas o se les desarrollan tardíamente. La explicación más aceptable es que se trata de un fenómeno multifactorial, en el que intervienen determinantes de diverso tipo, cuya interacción debe ser estudiada para entender el papel del descontrol metabólico. (VI)

Entre estos factores se encuentran: los genéticos, la duración de la diabetes, la edad, las hormonas sexuales, la presencia de nefropatía, hipertensión arterial sistémica y embarazo, y factores oculares intrínsecos como la miopía, el glaucoma o alguna forma de atrofia de la retina, que "protegen" de la Retinopatía Diabética. (VII)

Entre los factores genéticos, los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad han mostrado tener gran relevancia debido a su polimorfismo. Se ha encontrado relación entre la severidad de la Retinopatía y la presencia de HLA B8, B15 y los antígenos DR4. En un estudio realizado en pacientes con DMID que iniciaron la enfermedad antes de los treinta años, se encontró que la presencia de DR4 y la ausencia de DR3 estaban relacionadas con el incremento de 5.4 veces la posibilidad de tener Retinopatía Diabética Proliferativa, comparado con la ausencia de DR4 y DR3.



También se ha visto relación con el HLAB7, que se encuentra solo en el 6% de los pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa, contra 20% en los pacientes con Retinopatía No Proliferativa y 32% en los controles normales. En otras palabras, los diabéticos que heredan este antígeno, tienen cuatro veces menos posibilidad de desarrollar Retinopatía Diabética Proliferativa que aquellos que no lo heredan. Se desconoce si existe esta misma relación en pacientes Mexicanos con DMNID. (VIII, IX)

Existen estudios en los que se ha encontrado que los antígenos HLADR se expresan en los macrófagos de las membranas epirretinianas de pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa. El desarrollo de estas membranas podría relacionarse a un proceso inmunológico que explique, en parte, la aparición de Retinopatía Diabética Proliferativa.

## **MATERIAL Y METODOS**

Se realizó un estudio de casos y controles, transversal y retrospectivo. Se estudiaron un total de 298 pacientes mestizos Mexicanos con diagnóstico de DMNID, formando un grupo de casos de 100 pacientes con diagnóstico de RDP y un grupo control de 198 pacientes con diagnóstico de DMNID sin RDP; a los cuales se les extrajo DNA por la técnica de expulsión salina (saltin out) a partir de células mononucleares provenientes de sangre

También se ha visto relación con el HLAB7, que se encuentra solo en el 6% de los pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa, contra 20% en los pacientes con Retinopatía No Proliferativa y 32% en los controles normales. En otras palabras, los diabéticos que heredan este antígeno, tienen cuatro veces menos posibilidad de desarrollar Retinopatía Diabética Proliferativa que aquellos que no lo heredan. Se desconoce si existe esta misma relación en pacientes Mexicanos con DMNID. (VIII, IX)

Existen estudios en los que se ha encontrado que los antígenos HLADR se expresan en los macrófagos de las membranas epirretinianas de pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa. El desarrollo de estas membranas podría relacionarse a un proceso inmunológico que explique, en parte, la aparición de Retinopatía Diabética Proliferativa.

## **MATERIAL Y METODOS**

Se realizó un estudio de casos y controles, transversal y retrospectivo. Se estudiaron un total de 298 pacientes mestizos Mexicanos con diagnóstico de DMNID, formando un grupo de casos de 100 pacientes con diagnóstico de RDP y un grupo control de 198 pacientes con diagnóstico de DMNID sin RDP; a los cuales se les extrajo DNA por la técnica de expulsión salina (saltin out) a partir de células mononucleares provenientes de sangre

periférica. Se amplificaron las regiones HLA DR B1,B3,B4 y B5 mediante la técnica de reacción de polimerasa en cadena (PCR) y los antígenos de cada uno de los loci se determinaron hibridando el DNA con sondas de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) mediante la técnica de "dot blot" reverso revelado por quimioluminiscencia. El diagnóstico de RDP se realizó mediante examen oftalmológico con lámpara de hendidura y con estudio fluorangiográfico.

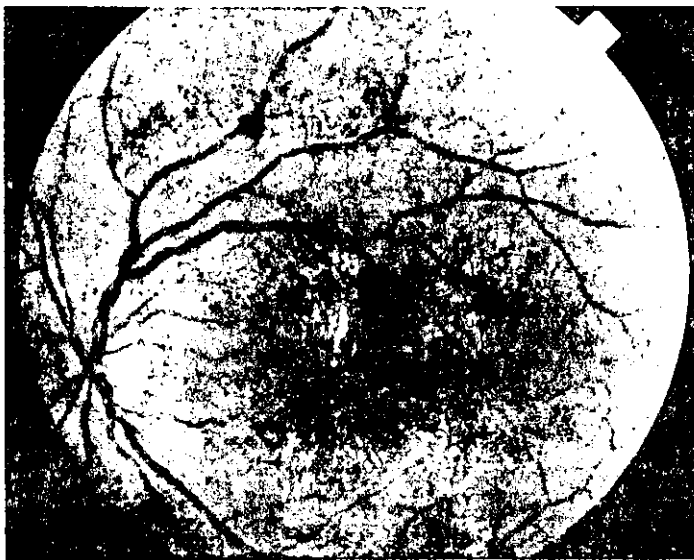


FOTO 2

Retinopatía Diabética No  
Proliferativa

Paciente con DMNID

Se consideraron criterios de inclusión: pacientes con diagnóstico de DMNID con una evolución de menos de 15 años, antecedentes confiables de la evolución de la enfermedad y su autorización por escrito para participar en el estudio; y como criterios de exclusión: aquellos pacientes con patología ocular correspondiente a miopía inestable y/o glaucoma primario de ángulo abierto, diagnóstico de Hipertensión Arterial descontrolada y rechazo a participar en el estudio.

Las frecuencias génicas de los alelos del locus HLA DR en los pacientes se compararon con las del grupo control de pacientes sin RDP (n=198) apareados por etnicidad. Las diferencias entre ambos grupos y su significado estadístico se estableció mediante las pruebas no paramétricas de Chi cuadrada y exacta de Fisher utilizando el paquete estadístico EPIINFO.

## **RESULTADOS**

El grupo de pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa mostró una disminución estadísticamente significativa del alelo HLA DR2 ( $p=0.004$ ) al compararse con el grupo control. Este grupo de pacientes mostró aumento de los alelos HLA DR4 y DR8 que sin embargo no fue significativo al corregir el valor de  $p$ . La distribución del resto de los alelos fue semejante en los casos y controles como podemos observar en la **tabla 1**.

Al valorar la frecuencia génica de los alelos HLA DR en pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa se observó una prevaencia de DR4, DR8 y DR7 que se puede valorar en la **tabla 2**.

Las frecuencias génicas de los alelos del locus HLA DR en los pacientes se compararon con las del grupo control de pacientes sin RDP (n=198) apareados por etnicidad. Las diferencias entre ambos grupos y su significado estadístico se estableció mediante las pruebas no paramétricas de Chi cuadrada y exacta de Fisher utilizando el paquete estadístico EPIINFO.

## **RESULTADOS**

El grupo de pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa mostró una disminución estadísticamente significativa del alelo HLA DR2 ( $p=0.004$ ) al compararse con el grupo control. Este grupo de pacientes mostró aumento de los alelos HLA DR4 y DR8 que sin embargo no fue significativo al corregir el valor de  $p$ . La distribución del resto de los alelos fue semejante en los casos y controles como podemos observar en la **tabla 1**.

Al valorar la frecuencia génica de los alelos HLA DR en pacientes con Retinopatía Diabética Proliferativa se observó una prevaencia de DR4, DR8 y DR7 que se puede valorar en la **tabla 2**.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Estos datos muestran que el alelo HLA DR2 confiere protección al desarrollo de Retinopatía Diabética Proliferativa en pacientes Mexicanos con DMNID. Se muestra claramente que existen genes protectores que se encuentran dentro del CMH, específicamente en el locus HLA DR y se identifican por la presencia del alelo HLA DR2.

Estos datos no permiten identificar algún gen dentro del CMH que explique la alta prevalencia de Retinopatía Diabética Proliferativa en individuos de origen mexicano.

Es claro el papel protector del alelo HLA DR2 en el desarrollo de esta complicación tardía de la diabetes.

Este trabajo muestra claramente que en Mexicanos existen genes protectores al desarrollo de RDP.

El mecanismo de protección que aquí se demostró amerita ampliarse con el estudio de familiares en primer grado de cada uno de los pacientes positivos para DR2. Se conoce que la forma de herencia de la protección es dominante mientras que la de la susceptibilidad es recesiva e involucra el reconocimiento por parte del receptor de la célula T, de los péptidos diabetogénicos y muy probablemente péptidos directamente involucrados con la RDP. Este es el primer reporte de genes protectores contra RDP en grupos étnicos mexicanos con alta prevalencia de esta complicación. Llama la atención que el alelo DR2 encontrado aquí como protector para RDP haya sido reportado también como

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

protector para DMID en individuos orientales, no podemos saber en este momento si la protección sea a ambas entidades nosológicas o se ejerza de manera individual en cada una de ellas, pero resulta interesante que el mismo alelo proteja a dos grupos étnicos que estuvieron vinculados genéticamente hace 25,000 años cuando los pobladores de América derivaron del tronco mongoloide.

El mecanismo por el cual se ejerce la susceptibilidad a las enfermedades a partir de los genes del CMH esta poco entendido, sin embargo, es conocido que frecuentemente interactua con agentes infecciosos sobre todo de tipo viral. En la DMID parece participar de manera directa la infección por citomegalovirus, pero no esta claro que en el desarrollo de la RDP también participe la infección viral. De cualquier manera los individuos susceptibles a DMID y RDP tienen en común la presencia de los alelos de DR4 y DR3, en este trabajo solo el primero mostró aumento no significativo en paciente comparado con controles por lo que hasta el momento es difícil precisar el mecanismo de susceptibilidad ejercido por los genes del CMH.

Finalmente, puesto que el alelo más común fue el DR4, es necesario realizar los subtipos moleculares de dicho gen para identificar los genes de susceptibilidad, ya que su presencia en los controles también es la mas alta y solo la subtipificación molecular permitirá saber si algunos de los subtipos es de susceptibilidad.

## BIBLIOGRAFIA

- I.-Increased incidence of type II diabetes mellitus in Mexican American. Haffner S, Hazuda H, Mitchell BD, Patterson J. Diabetes Care. 1991;14:102-108.
- II,- Incidence of type II diabetes in Mexican American predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity and body fat distribution. Haffner S, Ster M, Mitchell BD, Hazuda H, Patterson J. Diabetes 1990;39:283-288.
- III.- Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. Publicación de la Secretaría de Salud. 1994.
- IV.- Genetic and enviromental determinants of type II diabetes in México city and San Antonio. Ster M, Gonzalez C, Mitchell BD, et al. Diabetes 1992;41:484-492.
- V.- Pericytes in diabetic retinopathy. De Oliviera F. BR Ophthalmol. 1996, 50:134-43.
- VI.- Estudios epidemiológicos sobre el desarrollo de Retinopatía y nefropatía. Malacara HJ, Huerta FM. Tratado de Diabetología. 1997, 675-678. INNSZ.
- VII.- Oftalmopatía Diabética. Cárdenas VF. Tratado de Diabetología .1997, 695-722. INNSZ.
- VIII.- Genetic susceptibility to the development of retinophaty in insulin dependent diabetics. Dornan TL, Ting A, peckar CO. Diabetes. 1982;31:226-31
- IX.- Histocompatibility antigen frecuencies . in diabetic retinophaty. Barbosa J, Ramsay RC, Cantrill HL. Am J Ophtalmol. 1980;90:148.



X.- Diabetic retinopathy in mexicans americans and non-hispanics  
withes.Haffner SM, Fong D, Ster MP,et al.Diabetes.1988;37:878-84.