



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE QUÍMICA-UMP-HRAEPY

CAMPO DISCIPLINARIO: INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y EXPERIMENTAL

CAMPO DEL CONOCIMIENTO: BIOQUÍMICA CLÍNICA

Asociación de los polimorfismos *VEGFA* (rs2146323) y *ECA* (rs4295) con retinopatía diabética en población yucateca

TESIS

QUE, PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PRESENTA:

FIONA CAROLINA XACUR GARCÍA

TUTOR:

DRA. MARTA ALICIA MENJIVAR IRAHETA

Facultad de Química

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. YONATHAN GARFIAS BECERRA

Instituto de Oftalmología Fundación “Conde de Valenciana”

DR. FRANCISCO JAVIER ESTRADA MENA

Escuela de Medicina Universidad Panamericana

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE 2019



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.



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 está 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 los autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo. En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. Marta Menjívar Iraheta, directora de esta tesis y del Programa de Maestría en Investigación Clínica y Experimental, quien con su pasión por la investigación motivó la realización de este proyecto y me enseñó a contar la historia. A la Dra. Bárbara Peña Espinoza que estuvo siempre presente para guiarme tanto en el laboratorio como en el trabajo de campo, que me enseñó bioestadística, entre muchas otras cosas, y cuya paciencia es infinita. Ambas son excelentes maestras y su compromiso con la investigación es admirable.

Al CONACYT por el apoyo económico a la investigación.

A mi Comité Tutor Dr. Yonathan Garfias Becerra y Dr. Francisco Javier Estrada Mena, así como al jurado evaluador Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz, Dr. Aarón Domínguez López y Dra. Gloria Queipo García por su tiempo y sus invaluable aportaciones que enriquecieron mi formación en el proceso de esta tesis.

Agradezco también a mis compañeros Sherlin May Kim, Aurea Acosta Tun, Mario Basulto Martínez y Erandi Bravo Armenta por su apoyo en el trabajo de campo y sus valiosas aportaciones al proyecto.

Al Hospital Regional de Alta Especialidad y al Servicio de Oftalmología por permitirme continuar mi formación como investigadora a la par de la labor asistencial y contribuir con espacios, equipos y personal para el reclutamiento de pacientes. Agradezco especialmente al personal de enfermería que nos apoyó en este proceso.

A mi esposo Juan Pablo por sus consejos. A mis hijos Mauricio y Victoria que insistían en ayudarme a escribir en la computadora. A mis suegros Carlos e Irma por brindarme todo el apoyo siempre que fue necesario.

En fin, a todas las personas que contribuyeron, especialmente a los pacientes a quienes dedicamos todo lo que hacemos.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN	7
2	INTRODUCCIÓN.....	9
2.1	<i>DEFINICIÓN DE DIABETES TIPO 2</i>	9
2.2	<i>EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES TIPO 2</i>	9
2.3	<i>RETINOPATÍA DIABÉTICA COMO COMPLICACIÓN DE LA DIABETES TIPO 2</i>	10
2.3.1	<i>CLASIFICACIÓN DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA</i>	10
2.3.2	<i>FISIOPATOGENIA DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA</i>	12
2.3.3	<i>FACTORES DE RIESGO PARA RETINOPATÍA DIABÉTICA</i>	14
2.3.4	<i>GENÉTICA DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA</i>	15
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
4	JUSTIFICACIÓN	25
5	HIPÓTESIS.....	26
6	OBJETIVO GENERAL.....	27
7	MATERIAL Y MÉTODOS	28
7.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	28
7.2	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	28
7.3	TAMAÑO DE MUESTRA	29
7.4	MATERIAL Y MÉTODOS	29
7.5	DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA	31
7.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
8	RESULTADOS.....	37
8.1	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN	37
8.2	DIABETES Y COMORBILIDADES	39
8.3	RETINOPATÍA DIABÉTICA	41
8.4	RESULTADOS BIOQUÍMICOS	42
8.5	RESULTADOS MOLECULARES	43
8.6	ESTADÍSTICA COMPARATIVA	45
8.7	ANÁLISIS NUTRICIONAL	50

<u>9</u>	<u>DISCUSIÓN.....</u>	<u>52</u>
<u>10</u>	<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>58</u>
<u>11</u>	<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	<u>59</u>
<u>12</u>	<u>ANEXOS.....</u>	<u>75</u>
12.1	APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN	75
12.2	CONSENTIMIENTO INFORMADO	76
12.3	INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	82
12.4	RECORDATORIO DE DIETA	84
12.5	FRECUENCIA SEMANAL DE ALIMENTOS	85
12.6	EXTRACCION DE DNA SALTING-OUT (TÉCNICA DE MILLER MODIFICADA)	86
12.7	VERIFICACIÓN DE INTEGRIDAD EN GEL DE AGAROSA	87
12.8	GENOTIPIFICACIÓN: REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA	88
12.9	REACTIVOS	89
12.10	DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	89

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Asociación del tiempo de evolución de la diabetes con la prevalencia de retinopatía diabética.....	14
TABLA 2. Diez genes principales con polimorfismos asociados a retinopatía diabética.....	16
TABLA 3. Estudios de casos y controles que asocian polimorfismos de <i>VEGFA</i> con retinopatía diabética.....	18
FIGURA 1. Representación esquemática del cromosoma 6 y el gen <i>VEGFA</i>.....	19
FIGURA 2. Esquema de interacciones entre <i>ECA</i> y <i>VEGFA</i>.....	21
FIGURA 3. Representación esquemática del cromosoma 17 y el gen <i>ECA</i>.....	22
FIGURA 4. Distribución de la población por edad y sexo.....	35
FIGURA 5. Apellidos mayas.....	36
FIGURA 6. Lengua Maya.....	36
FIGURA 7. Estado Civil.....	36
FIGURA 8. Procedencia.....	36
FIGURA 9. Escolaridad.....	36
FIGURA 10. Ocupación.....	36
FIGURA 11. Edad de diagnóstico.....	37
FIGURA 12. Tiempo de evolución de la diabetes.....	37
FIGURA 13. Tratamiento de la diabetes.....	38
FIGURAS 14-18. Comorbilidades.....	38
FIGURAS 19-20. Sobrepeso y Obesidad.....	39
FIGURA 21. Distribución por grado de retinopatía diabética.....	40
FIGURA 22. Prevalencia de edema macular.....	40

FIGURAS 23-24. Control glucémico.....	41
TABLA 4. Frecuencias alélicas y genotípicas	42
TABLA 5. Ausencia de asociación entre los modelos dominante y recesivo de rs2146323 y rs4295 con retinopatía diabética.....	42
FIGURA 25. Retinopatía diabética y lengua maya.....	43
FIGURA 26. Retinopatía diabética y tiempo de evolución.....	43
FIGURA 27. Retinopatía diabética y edad de diagnóstico.....	43
FIGURA 28. Retinopatía diabética referible y lengua maya.....	44
FIGURA 29. Retinopatía diabética referible y tiempo de evolución.....	44
FIGURA 30. Retinopatía diabética referible y edad de diagnóstico.....	44
FIGURA 31. Retinopatía diabética proliferativa y sexo.....	44
FIGURA 32. Retinopatía diabética proliferativa y lengua maya.....	44
FIGURA 33. Retinopatía diabética proliferativa y tiempo de evolución.....	44
FIGURA 34. Retinopatía diabética proliferativa y edad de diagnóstico.....	44
FIGURA 35. Edema macular y lengua maya.....	45
FIGURA 36. Edema macular y tiempo de evolución.....	45
FIGURA 37. Edema macular y presión arterial sistólica.....	45
TABLA 6. Estadística comparativa retinopatía diabética.....	46
TABLA 7. Estadística comparativa edema macular.....	47
TABLA 8. Análisis nutricional retinopatía diabética.....	48
TABLA 9. Análisis nutricional edema macular.....	49

1 RESUMEN

Introducción: La retinopatía diabética (RD) y el edema macular (EM) son una importante complicación de la diabetes y la primera causa de ceguera irreversible en adultos en edad productiva. La obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes son altamente prevalentes en Yucatán, lo cual se ha ligado al componente genético único Maya de la región. La etiología de la RD es multifactorial, con una heredabilidad que se ha estimado en 30 a 50%. Es por esto que realizamos un estudio de casos y controles en población yucateca para caracterizar la RD clínica y bioquímicamente, así como determinar si existe asociación de la RD con los polimorfismos rs2146323 de *VEGFA* y rs4295 de *ECA*.

Metodología: Se llevó a cabo una campaña de detección de RD en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Yucatán de noviembre de 2017 a diciembre de 2018. Se obtuvo historia clínica, signos vitales, somatometría, evaluación de la dieta, muestra sanguínea y revisión con fotografías del fondo de ojo. Se obtuvieron determinaciones bioquímicas y se realizó genotipificación de las muestras sanguíneas mediante PCR de tiempo real. Las fotografías de fondo de ojo fueron clasificadas por dos oftalmólogos y se determinó la concordancia de las clasificaciones. Se generó una base de datos en Excel y SPSS v.23.0 y se aplicó estadística descriptiva y comparativa para el análisis de datos.

Resultados: Se reclutaron 191 pacientes, de los cuales 176 completaron el protocolo de estudio. El promedio de edad fue de 55.79 ± 11.76 años; 62.3% fueron mujeres. La edad media de diagnóstico de DT2 fue de 44.5 ± 11.3 años; el tiempo de evolución con DT2 fue de 11.29 ± 8.6 años. El 80% de la población estudiada tenía obesidad o sobrepeso. El 70% tenían un inadecuado control de la glucemia. La prevalencia de RD fue de 51.4%; 9% tenían edema macular (EM). Se encontraron diferencias significativas entre los grupos con y sin RD en: tiempo de evolución, edad de diagnóstico, peso, índice de masa corporal (IMC), ácido úrico, nitrógeno ureico, creatinina, urea y albúmina. Hubo diferencias significativas entre los grupos con y sin edema macular en: tiempo de evolución, presión arterial sistólica y VLDL. Las frecuencias alélicas y genotípicas del rs2146323 de *VEGFA* en la población estudiada fueron comparables a las frecuencias descritas para otras poblaciones en proyecto 1000 genomas y cumplieron con el equilibrio de Hardy-Weinberg.

El homocigoto de riesgo del rs4295 de *ECA* se presentó con una frecuencia mayor en la población estudiada que en las poblaciones de referencia del proyecto 1000 genomas, y no se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg. No se encontró asociación de ninguno de estos polimorfismos con la RD. La lengua maya se asoció con la presencia de RD (OR 3.5, IC 1.5-8.2, $p=0.004$) y EM (OR 7.9, IC 2.03-30.8, $p=0.003$).

Conclusiones: La obesidad y el descontrol glucémico podrían contribuir a la alta prevalencia de RD y EM en esta población. Los polimorfismos estudiados no presentaron asociación con la RD en el presente estudio. Sin embargo, el hecho de que los maya-hablantes presenten mayor riesgo sugieren factores genéticos involucrados que deben ser estudiados a mayor profundidad.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 DEFINICIÓN DE DIABETES TIPO 2

Según la Asociación Americana de Diabetes, la diabetes es “un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas”. Existen diversos tipos de diabetes, aunque la clasificación puede no ser tan sencilla. A grandes rasgos, la diabetes tipo 1 hace alusión a un grupo de enfermedades heterogéneas y poligénicas, caracterizadas por alteraciones en los procesos de inmunidad. Ante la susceptibilidad genética, factores ambientales no definidos desencadenan la producción de autoanticuerpos contra antígenos de las células β pancreáticas, y culminan en deficiencia absoluta de insulina y necesidad de insulina exógena (1). La diabetes tipo 2, que representa aproximadamente 95% de los casos de diabetes, se caracteriza por resistencia a la insulina y deficiencia relativa de la misma. La diabetes tipo 2 suele presentarse en la edad adulta y es multifactorial. A largo plazo, las células β pancreáticas se agotan y se vuelve necesaria la insulina exógena (2).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES TIPO 2

La prevalencia de Diabetes tipo 2 (DT2) se ha incrementado en la última década, según la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés), una de cada 11 personas padecen DT2 y México ocupa el sexto lugar mundial en número de personas con esta patología (3). A nivel Nacional, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2016 el 9.4% de la población adulta reportó tener un diagnóstico previo de diabetes; entre los estados que presentan mayor prevalencia de DT2 se encuentra Yucatán con un 10.2% (4). En un estudio genético de DT2 realizado en Yucatán, se encontró que 20% de la población indígena presentaba DT2, de los cuales 60% no tenía diagnóstico previo (5).

La DT2 está asociada con la incidencia de diversas complicaciones micro y macrovasculares causadas por el descontrol metabólico, principalmente las hiperglucemias prolongadas (6–8), las cuales pueden ser diagnosticadas a través de la cuantificación de la hemoglobina glicada (HbA1c) (9). El mayor riesgo de desarrollar complicaciones está en los pacientes con HbA1c entre 7% y 9%(10).

2.3 RETINOPATÍA DIABÉTICA COMO COMPLICACIÓN DE LA DIABETES TIPO 2

Una las complicaciones en la DT2 de mayor importancia clínica es la retinopatía diabética (RD); se estima que a nivel mundial la RD se presenta en 35% de los pacientes con DT2 (7). La ENSANUT 2016, reportó que la pérdida de visión fue la complicación más frecuente en la DT2 presentándose en 54.5% de los pacientes, de este porcentaje el 11.2% reportaron tener daño en la retina y el 9.9% reportaron pérdida total de la vista (4).

Otro de los factores que están estrechamente relacionados con el desarrollo de la RD es el tiempo de evolución de la DT2. Al cabo de 15 años con DT2, aproximadamente 2% de los pacientes pierden por completo la vista y 10% sufren un deterioro grave de la visión (6,7), lo cual coincide con estadísticas que señalan a la RD como la complicación microvascular más frecuente en DT2 (10). Los pacientes que sufren esta complicación discapacitante se encuentran habitualmente en edad productiva y ven su calidad de vida severamente afectada (11,12).

2.3.1 Clasificación de la Retinopatía Diabética

La RD se define como la presencia de micro aneurismas en la vasculatura retiniana en al menos un ojo. Además se pueden presentar otros cambios asociados a los micro aneurismas como: exudados lipídicos, edema y hemorragias intrarretinianas, malformaciones arteriovenosas, arrosamiento venoso, lesiones algodinosas (isquemia retiniana) y proliferación de neovasos (13,14).

Existen diversas clasificaciones de la RD, entre las más utilizadas se encuentran (13):

- a) La clasificación Airlie House, la cual se basa en estereofotografías de 7 campos del fondo de ojo y se divide en niveles del 10 al 85. Esta clasificación, por su complejidad, no es una herramienta de uso cotidiano en la práctica clínica (13).

b) La escala clínica Internacional de severidad de la retinopatía diabética (ICDSS, por sus siglas en inglés). Desarrollada con base a los hallazgos de estudios relacionados con la RD como es el caso del estudio epidemiológico de la retinopatía diabética de Wisconsin (WESDR, por sus siglas en inglés) y el estudio de tratamiento temprano de retinopatía diabética (ETDRS, por sus siglas en inglés). Esta clasificación es la más utilizada en la práctica clínica ya que es simple y fácil de aplicar. En esta escala se describen cinco estadios:

1. Sin retinopatía diabética aparente.
2. Retinopatía diabética no proliferativa (RDNP) leve: Se define por la presencia de pocos micro aneurismas.
3. Retinopatía diabética no proliferativa Moderada (RDNP Moderada): Se define por presencia de micro aneurismas, hemorragias intrarretinianas y/o arrosamiento venoso que no alcanzan la definición de RDNP severa.
4. Retinopatía diabética no proliferativa Severa (RDNP Severa): Se define por la regla del 4:2:1, que corresponde a hemorragias en cuatro cuadrantes y/o arrosamiento venoso en dos cuadrantes y/o anomalías microvasculares intrarretinianas (AMIRes) en un cuadrante. Es el estadio crítico en el que 50% de los pacientes desarrollarán características de alto riesgo (de pérdida visual) si no se da tratamiento (14,15).
5. Retinopatía diabética proliferativa (RDP): Esta clasificación se basa en la presencia de neovasos en el nervio óptico, en cualquier parte de la retina, iris y/o en el ángulo camerular, así como la presencia de hemorragia vítrea o desprendimiento traccional de la retina (13).

c) Edema macular: Basado en la presencia de exudados y engrosamiento retiniano. Se puede presentar en cualquier estadio de la retinopatía diabética. Se define como leve, moderado y severo según la distancia de las lesiones a la fovea (13).

d) Clasificación fluorangiográfica: Se clasifica según la zona avascular foveal, la pérdida capilar, la dilatación capilar, las anomalías arteriolares y del epitelio

pigmentario de la retina, se realiza mediante una fluorangiografía de retina con medio de contraste (13).

- e) Clasificación tomográfica: Se basa en la evaluación del edema macular a través de una tomografía de coherencia óptica de la retina, sin embargo no es útil para la clasificación de la retinopatía (13).
- f) EURODIAB e ICDR (International Clinical Diabetic Retinopathy): se toma en cuenta el grado de retinopatía diabética y el edema macular.
 - Retinopatía de base, que corresponde a la retinopatía no proliferativa leve
 - Retinopatía no proliferativa moderada (MDR)
 - Retinopatía que amenaza la visión (VTDR), que incluye retinopatía no proliferativa severa o proliferativa y/o edema macular
 - Retinopatía diabética referible: incluye MDR y VTDR. Por lo general estos grados de retinopatía son los que requieren intervención y deben referirse al especialista (16,17)

Para limitar el daño y pérdida de la visión en las personas con DT2, es necesario detectar y tratar los casos con retinopatía pre-proliferativa y/o edema macular. Las principales dificultades para lograrlo son el acceso insuficiente a los especialistas y la baja sensibilidad del examen clínico, aun cuando es realizado por oftalmólogos. Se ha reportado que la sensibilidad del examen clínico es alrededor del 60%. Las fotografías del fondo de ojo mejoran esta sensibilidad de un 87 a 100% (18).

2.3.2 Fisiopatogenia de la retinopatía diabética

En las personas con DT2, e incluso en personas con prediabetes, existen cambios microvasculares característicos que con el tiempo llevan a complicaciones multiorgánicas. En el ojo la hiperglucemia conduce a neuropatía, catarata, isquemia retiniana, hemorragia pre-retiniana, edema macular, glaucoma neovascular y desprendimiento de retina (18–22).

La fisiopatogenia de la RD está relacionada con el incremento en la formación de productos finales de glicosilación avanzada (AGE, por sus siglas en inglés), la actividad en la vía del sorbitol y la vía de las hexosaminas, la producción crónica de citocinas proinflamatorias y

de especies reactivas de oxígeno, así como activación de la vía de diacilglicerol (DAG)/proteína cinasa C (PKC) y alteraciones en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) (18,23,24). La alteración en estos procesos conlleva a la activación del proceso de apoptosis de los pericitos, generando daño al endotelio y a la membrana basal endotelial. Además se reduce la flexibilidad de los eritrocitos y leucocitos, lo cual genera leucostasis y un ambiente de hipoxia retiniana (25). La hipoxia es un proceso en el cual se estimulan diversos factores como el factor de transcripción 1α inducible por hipoxia (HIF- 1α , por sus siglas en inglés), que a su vez activa la expresión de genes como el del factor de crecimiento vascular endotelial (*VEGF*), la eritropoyetina (*EPO*), la hemo oxigenasa (*HO*), la adrenomedulina (*AMD*) y el transportador de glucosa 1 (*GLUT-1*) (26).

El daño causado por la DT2 también afecta a las células nerviosas de la retina. Se ha demostrado en modelos animales que hay activación glial y aumento de la apoptosis en células ganglionares, fotorreceptores y epitelio pigmentado de la retina, aún antes de que existan cambios microvasculares detectables. En humanos se han detectado alteraciones en la sensibilidad al contraste, la discriminación de color y la adaptación a la oscuridad que se relacionan con cambios en estudios de electrofisiología en dos años después del diagnóstico de DT2. El principal metabolito neurotóxico involucrado en la neurodegeneración en diabetes es el glutamato; la angiotensina II parece jugar también un papel (27).

Las vías finales en la RD entonces son: neurodegeneración, daño a la barrera hematorretiniana con aumento de la permeabilidad vascular, oclusión vascular y desregulación de la angiogénesis.

Aunque existen diversas vías involucradas, la vía del VEGF es la más estudiada, ya que se ha utilizado como blanco de terapias para el edema macular y la retinopatía proliferativa, debido a que aumenta la permeabilidad vascular e induce la proliferación de neovasos (28). Sin embargo, la fisiopatogenia de la RD es muy compleja, lo que genera un campo amplio de estudio para la investigación y la búsqueda de estrategias que ayuden a comprender esta patología en su totalidad.

2.3.3 Factores de riesgo para retinopatía diabética

Entre los factores clásicos que influyen en la presencia y severidad de la RD están la hiperglucemia, el descontrol de la presión arterial sistémica y la dislipidemia (7,29–31). Diversos estudios han demostrado que un control estricto de la DT2 retrasa la progresión de la RD, ya que reducciones de 1% en la HbA1c disminuye el riesgo de complicaciones microvasculares. Sin embargo, la caída brusca de la glucemia puede aumentar la progresión de la RD transitoriamente (9,10,32–34). El descontrol de la presión arterial es un factor de riesgo que se ha asociado consistentemente con la RD (29,35–37); sin tener una clara asociación de la dislipidemia con el desarrollo de la RD (38–40). Adicionalmente, se ha considerado a la miopía como un factor protector, encontrándose que a mayor longitud axial del globo ocular el riesgo de RD es menor (41,42). Otros factores relacionados con la progresión del descontrol metabólico en la RD son el tipo y tiempo de evolución de la DT (6,15,37,43) (Tabla 1).

Tabla 1. Asociación del tiempo de evolución de la diabetes con la prevalencia de RD (15).

Diabetes tipo 1		Diabetes tipo 2	
Tiempo de evolución de la patología	de Prevalencia de la RD	Tiempo de evolución de la patología	de Prevalencia de la RD
Menos 5 años	Muy bajo	11-13 años	23 %
5- 10 años	27 %	13 -16 años	44 %
10-20 años	71-90 %	16-20 años	60 %
Más de 20 años	95 %	20-30 años	77 %
		Más de 30 años	96 %

El tiempo de evolución, la glucemia, la hipertensión arterial y otros factores externos explican 50-80% de los casos de RD en los pacientes con DT2 (44). Debido a ello, se han

propuesto factores genéticos y epigenéticos involucrados en la RD como factores de riesgo o protección (45–47).

2.3.4 Genética de la retinopatía diabética

Es innegable el papel de los factores genéticos en la susceptibilidad a RD, ya que diversos estudios han identificado una mayor frecuencia de RD en ciertos grupos étnicos como: hispanos, asiáticos y africanos (7,30,48–50). Además, estudios en gemelos y en familias indican que la RD es altamente heredable: se estima la heredabilidad en 27% para RDNP y 52% para RDP (51).

La relación de la variabilidad genética con la susceptibilidad a RD y RDP ha sido ampliamente investigada a nivel de genes candidatos, estudios de ligamiento genético, GWAS y estudio de haplotipos (52–55). Se han identificado variantes genéticas asociadas a RD en:

- Enzimas involucradas en metabolismo
- Factores involucrados en el proceso de angiogénesis
- Factores de crecimiento
- Factores de regulación del crecimiento celular
- Moléculas inflamatorias
- Sistema antioxidantes (18,53,54,56–89)

La variabilidad genética proviene de cinco fuentes principales: sustitución de un solo par de bases (SNP), inserción, deleción, variación en el número de copias y rearrreglo de cromosomas. Un polimorfismo es un cambio en la secuencia del DNA, cuya frecuencia en la población es superior al 1%. Más de 200 polimorfismos genéticos han sido asociados en uno o más estudios a la presencia y progresión de la RD proliferativa y no proliferativa. En la tabla 2 se muestran los 10 principales.

Los SNPs son relativamente frecuentes en el genoma y difieren entre poblaciones. Pueden servir como marcadores biológicos o estar directamente asociados a la susceptibilidad o protección de ciertas enfermedades (90). La prevalencia y severidad tanto de la DT2 como de la RD parece ser más elevada en poblaciones hispanas en comparación con caucásicos (48,91,92). En México se ha encontrado que la obesidad, el síndrome metabólico y la

diabetes son más frecuentes en la zona maya que en el resto del país. La población de la zona Maya se caracteriza por su mestizaje con una importante proporción del componente nativo americano. Este componente nativo americano corresponde casi exclusivamente al componente ancestral único Maya (5,93).

Tabla 2. Diez genes principales con polimorfismos asociados a RD

RD		RDP		RDNP	
Gen	Nombre	Gen	Nombre	Gen	Nombre
<i>ICAM-1</i>	Moléculas de adhesión intracelular 1	<i>VEGF</i>	Factor de crecimiento endotelial vascular	<i>VEGF</i>	Factor de crecimiento endotelial vascular
<i>VEGF</i>	Factor de crecimiento endotelial vascular	<i>ACE</i>	Enzima convertidora de angiotensina	<i>AKR1A1</i>	Aldo-ceto reductasa 1
<i>AGT</i>	Angiotensina	<i>CXCL12</i>	Ligando de quimiosina 12	<i>SDHB</i>	Complejo Succinato deshidrogenasa
<i>PON1</i>	Paraxonasa 1	<i>UCP2</i>	Proteína desacoplante 2	<i>RBP3</i>	Proteína de unión al retinol 3
<i>AGTR1</i>	Receptor tipo 1 de angiotensina	<i>CYR61</i>	Inductor anigogénico 61	<i>GFER</i>	Factor de crecimiento
<i>SOD1</i>	Superóxido dismutasa 1	<i>IL-6</i>	Interleucina 6	<i>SARDH</i>	Sarcosina-Deshidrogenasa
<i>SIRT1</i>	Sirtuina 1	<i>TNF-α</i>	Factor de necrosis tumoral alfa	<i>ACE</i>	Enzima convertidora de angiotensina
<i>CRP</i>	Proteína C reactiva	<i>EPO</i>	Eritropoyetina	<i>CHN2</i>	Quimerina 2
<i>THBS1</i>	Trombospondina 1	<i>SERPINF1</i>	Serpina 1	<i>SDS</i>	Serina deshidratasa
<i>GAD2</i>	Glutamato descarboxilasa 2	<i>PDR</i>	Desorden pigmento reticulado	<i>KMT2D</i>	Lisina metiltransferasa 2D

RD: Retinopatía Diabética; RDP: Retinopatía Diabética Proliferativa; RDNP: Retinopatía Diabética No Proliferativa. * Fuente: DisGENET.

Por lo que se podrían identificar polimorfismos asociados a pacientes de alto riesgo de desarrollar RD mediante el análisis genético de DIAGRAM (94), lo cual genera un amplio

campo de investigación, ya que hay pocos estudios genéticos asociados al desarrollo de ésta.

Entre los más estudiados se encuentran el *VEGF*, involucrado en el proceso de angiogénesis y para el cual se han identificado al menos 15 polimorfismos relacionados con RD y con el riesgo de presentar edema macular diabético (67,72,78,84,95,96). Lo anterior se ha utilizado como estrategia en el campo de la farmacogenética, ya que se ha reportado que el genotipo CC del polimorfismo C634G del gen *VEGF* se asocia a mayor riesgo de edema macular, pero una mejor respuesta al tratamiento con bevacizumab (antagonista de VEGF), mientras que los genotipos CG y GG tienen una menor respuesta al mismo tratamiento (61).

Otros polimorfismos que son de gran importancia en la RD, son en los genes que codifican para los transportadores de glucosa y iones (*SLC2A1/GLUT1*, *SLC2A11* y *SLC24A3*), cuyas variaciones genéticas se han relacionado con la RD severa y progresión de RD en afroamericanos y malayos (47,96).

Así como también el gen de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS3) que induce vasodilatación y cuyas variaciones podrían sugerir su papel en el desarrollo de la RD en diferentes poblaciones (96).

2.3.4.1 rs2146323 (*VEGFA*)

El gen *VEGFA* se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 6 y codifica para el factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGFA). Es altamente polimórfico, ya que consta de ocho exones y seis intrones, que pueden dar lugar a siete isoformas pro-angiogénicas y una isoforma anti-angiogénica, mediante empalmes alternativos. Las modificaciones traduccionales y postraduccionales de VEGFA determinan su biodisponibilidad, localización y su interacción con los receptores VEGFR1 y VEGFR2, así como con el correceptor neuropilina 1 (87,97,98).

El VEGFA es miembro de la familia de factores de crecimiento PDGF/VEGF, proteínas con un importante papel en el proceso de angiogénesis. El receptor VEGFR2, acoplado a tirosina cinasa, es la principal vía de señalización de VEGFA. Entre sus efectos

predominantes se encuentra la proliferación, migración y supervivencia de las células endoteliales vasculares, así como el aumento de la permeabilidad vascular.

En la RD el VEGFA es el principal promotor de la formación de neovasos, y juega un papel preponderante en el aumento de la permeabilidad vascular, que resulta en edema de retina y edema macular diabético (99). En la Tabla 3 se enumeran los estudios de asociación de *VEGFA* con RD.

Tabla 3. Estudios de casos y controles que asocian polimorfismos de VEGFA con RD

SNP	País	Casos/ controles	OR	CI	p	Referencia
rs699947	China	129/139	3.54	1.12-11.9	0.031	Yang 2011
rs833061	China	129/139	3.72	1.17-11.85	0.026	Yang 2011
rs13207351	China	129/139	3.76	1.21-11.71	0.02	Yang 2011
rs3025035 rs3025021 rs2010963	México	71/71	--	--	NS	Gonzalez-Salinas 2017
rs833069	Turquía	127	ND	ND	0.031	Tetikoglu 2018
rs2146323	Turquía	127	ND	ND	0.069	Tetikoglu 2018
rs2146323	Australia	212/275				Abhary 2009
rs2146323 rs699947 rs833061 rs13207351	China	216/284	2.8 3.8 3.6 3.7	1.46-5.37 1.91-7.57 1.79-7.22 1.86-7.39	0.006 <0.001 0.001 <0.001	Yang 2014
rs2146323	Reino Unido	45/61	0.076	0.0096-0.6	0.0009	Churchill 2008
rs2146323 rs833070	Japón	254	1.67 1.67	1.01-2.74 1.01-2.54	0.047 0.047	Nakanishi 2009

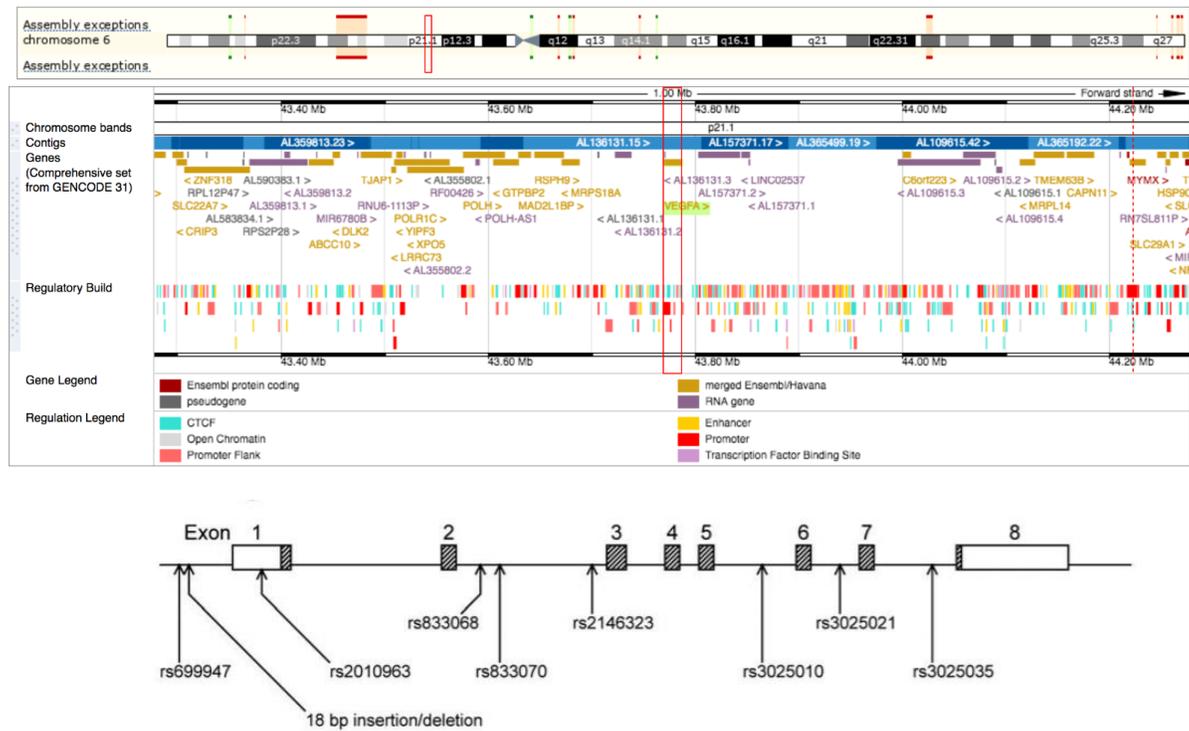
ND= no disponible

En un metaanálisis de 11 estudios de casos y controles no se encontró asociación de rs2010963, rs699947 ni rs3025039 con RD. En contraste, hubo asociación significativa de dos SNP con RD: rs3025039 (modelo recesivo, OR = 3.19, 95% CI = 1.20–8.41) y rs833061 (modelo recesivo, OR=2.12, 95% CI = 1.12-4.01) (100).

El polimorfismo rs2146323 ha sido replicado en diversas poblaciones. Es una variante intrónica C>A (+5092) en el gen del factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGFA),

con una frecuencia del alelo menor (A) alrededor de 0.3 (101). Se ha asociado con la presencia y progresión de RD, así como con la respuesta a inhibidores de VEGF en edema macular diabético y en degeneración macular relacionada a la edad (87,96,102–106). Un metaanálisis que incluyó 4 estudios con un total de 598 casos y 709 controles (asiáticos y caucásicos) encontró asociación significativa del rs2146323 con RD en el modelo dominante (OR = 1.38, CI = 1.10–1.72, $P = 0.005$) y co-dominante (OR = 1.37, CI = 1.08–1.74, $P = 0.008$) (107).

Figura 1. Representación esquemática del cromosoma 6 y el gen *VEGFA*.



2.3.4.2 *rs4295 (ECA)*

La enzima convertidora de angiotensina (ECA), también conocida como peptidil-dipeptidasa A, es una peptidasa que cataliza la conversión de la angiotensina I en angiotensina II. De esta forma produce vasoconstricción, además de inactivar a las moléculas vasodilatadoras bradicinina y la kaliceína, aumentando así la presión arterial.

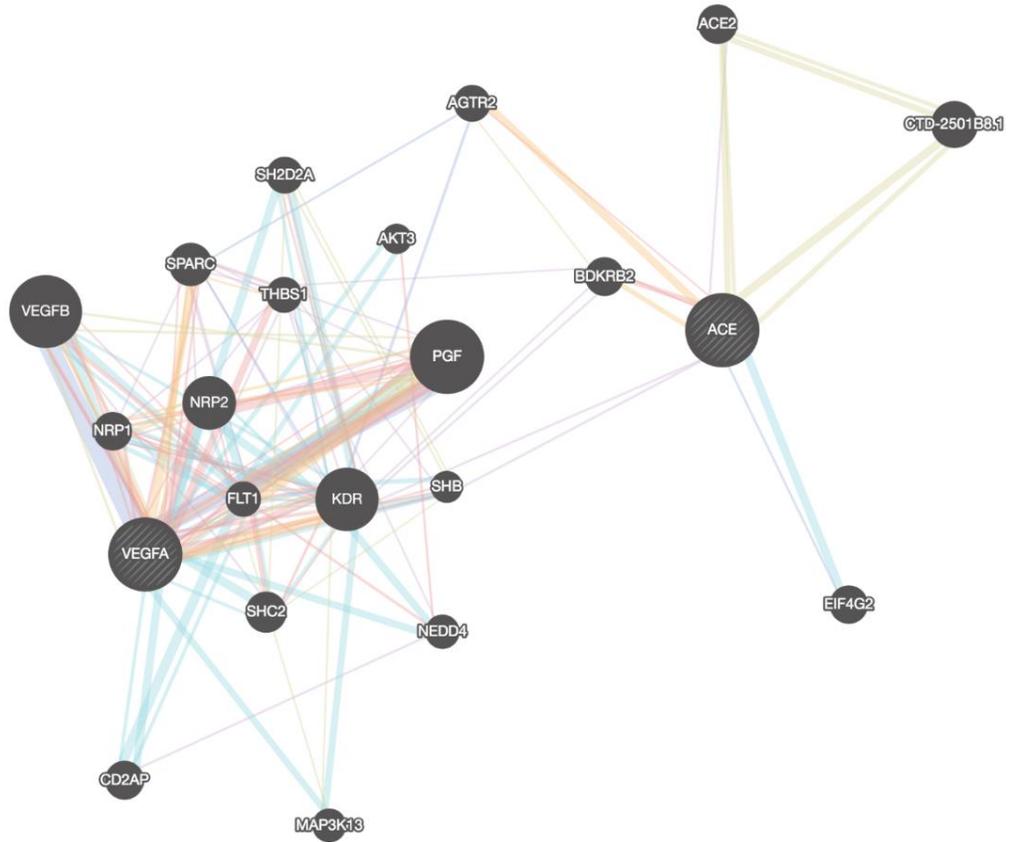
ECA es expresada principalmente en células endoteliales vasculares y en los pulmones. Sin embargo, se ha encontrado RNA mensajero de ECA en todos los tejidos humanos. ECA está involucrada en los procesos de coagulación, hematopoyesis, mielopoyesis, respuesta inmune, producción de especies reactivas de oxígeno, digestión, fertilidad y desarrollo embrionario (108).

Los niveles plasmáticos de ECA tiene una gran variación interindividual, que está determinada en gran parte por variaciones genéticas. En concreto, el polimorfismo de inserción/delección (I/D) en el intrón 16 del brazo largo del cromosoma 17 se correlaciona con la concentración sérica de ECA, de tal forma que el homocigoto DD presenta las más altas concentraciones, el homocigoto II las concentraciones más bajas y el heterocigoto ID concentraciones intermedias de esta enzima en sangre. Se han descrito alrededor de 80 polimorfismos en el gen *ECA*, muchos de ellos se encuentran en desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo I/D, y varios se han asociado con hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular y nefropatía en diversas poblaciones, incluida la mexicana (108–112).

La hipertensión arterial es más frecuente en las personas con diabetes que en la población general, y aumenta el riesgo de complicaciones vasculares, incluida la RD (29,35,36,48,113–115). El uso de inhibidores de ECA se ha asociado con una disminución en el riesgo de RD, independientemente del control de la presión arterial (116), lo que sugiere otras vías mediante las cuales ECA incide en la RD.

En ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, el uso de inhibidores de ECA disminuyó la expresión de retiniana de VEGF y la permeabilidad retiniana a la albúmina. Este efecto podría estar mediado por la angiotensina II, la cual estimula la expresión de VEGF *in vitro* (117).

Figura 2. Esquema de interacciones entre ECA y VEGFA



Fuente: GeneMania de la Universidad de Toronto. Rosa=interacciones físicas 67.64%, morado=coexpresión 13.5%, amarillo=predicciones 6.35%, lavanda=colocalización 6.17%, acqua=vías 4.35%, verde=interacciones genéticas 1.40%, amarillo=dominios de proteínas compartidos 0.59%.

El polimorfismo rs4295 es una variante intrónica C>G en el gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), con una frecuencia del alelo menor cercana a 0.4 (118). ECA cataliza la conversión de angiotensina I en angiotensina II, y forma parte fundamental del sistema renina-angiotensina-aldosterona, y por lo tanto en el control del tono vascular y la presión arterial. Además juega un papel importante en la remodelación vascular (119). Las isoformas de ECA son resultado del empalme alternativo.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La RD es una causa importante de discapacidad visual, principalmente en pacientes con DT2 que se encuentran en edad productiva (12). La DT2 y sus complicaciones son altamente prevalentes en Yucatán. Esto podría estar relacionado con el componente genético maya presente en la población yucateca (5,120). El fenotipo de la DT2 y sus complicaciones, así como la respuesta al tratamiento se ven influenciados por factores genéticos, que son particulares de cada población (99,121). Sin embargo los individuos de Latinoamérica están subrepresentados en los estudios genéticos (92).

4 JUSTIFICACIÓN

Las estadísticas a nivel mundial muestran que existen más de 400 millones de diabéticos (3); en México, y específicamente en Yucatán, la prevalencia de DT2 se ha reportado entre 10% y 20% de la población adulta (4,5,122). Una tercera parte de los pacientes con DT2 desarrollará RD y 10% presentarán pérdida visual irreversible (7). La susceptibilidad al desarrollo de la RD es variable, ya que sólo el 50% de los casos se explica por el control metabólico (51). Los factores genéticos pueden jugar un papel importante tanto en el desarrollo de RD como en la respuesta a diferentes tratamientos (99,103). En la población yucateca no se conocen los factores involucrados en la susceptibilidad a desarrollar DT2 y sus complicaciones. De hecho, el conocimiento actual de estos factores genéticos en la población de Yucatán es muy limitado o nulo. Por lo cual, la identificación de polimorfismos y su asociación con el desarrollo, severidad y progresión de la RD en población maya generará conocimiento que permita la personalización de la medicina como estrategia en la prevención, la detección y el tratamiento de la RD.

5 HIPÓTESIS

Los polimorfismos de *VEGFA* rs2146323 y *ECA* rs4295 se asocian con retinopatía diabética en población Maya-mestiza del sureste de México.

6 OBJETIVO GENERAL

Identificar si existe asociación de los polimorfismos rs4295 de *ECA* y rs2146323 de *VEGFA* con retinopatía diabética en diabéticos tipo 2 del sureste de México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ▶ Determinar la frecuencia de los polimorfismos rs2146323 de *VEGFA* y rs4295 de *ECA* en yucatecos con DT2.
- ▶ Caracterizar la retinopatía diabética en población yucateca.
- ▶ Identificar factores de riesgo para retinopatía diabética en población yucateca.

7 MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de casos y controles.

7.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Casos

Criterios de inclusión:

- Personas mayores de 18 años de edad con diagnóstico previo de DT2.
- Personas que tengan al menos un apellido maya en las tres generaciones previas.
- Personas que presenten signos de retinopatía diabética: microaneurismas, hemorragias intrarretinianas, exudados lipídicos, lesiones algodinosas, anomalías microvasculares intrarretinianas, neovasos, hemorragia vítrea o desprendimiento traccional de la retina.

Criterios de exclusión:

- Personas cuyas condiciones no permitan la adecuada visualización del fondo de ojo: catarata, opacidad corneal, pobre dilatación pupilar.
- Personas con otras enfermedades que pudieran causar retinopatía: sometidos a radiación, VIH +, oclusión vascular retiniana.

Criterios de eliminación

- Personas con datos incompletos.
- Personas con muestra sanguínea inadecuada o insuficiente.
- Personas que decidieron no continuar en el estudio.

Controles

Criterios de inclusión:

- Personas mayores de 18 años de edad con diagnóstico previo de DT2.
- Personas que tengan al menos un apellido maya en las tres generaciones previas.

- Personas que no presenten signos de retinopatía diabética: microaneurismas, hemorragias intrarretinianas, exudados lipídicos, lesiones algodinosas, anormalidades microvasculares intrarretinianas, neovasos, hemorragia vítrea o desprendimiento traccional de la retina.

Criterios de exclusión:

- Personas cuyas condiciones no permitan la adecuada visualización del fondo de ojo: catarata, opacidad corneal, pobre dilatación pupilar.

Criterios de eliminación

- Personas con datos incompletos.
- Personas con muestra sanguínea inadecuada o insuficiente.
- Personas que decidieron no continuar en el estudio.

7.3 TAMAÑO DE MUESTRA

Se determinó que se requieren 92 casos y 92 controles mediante aproximación de POISSON con ayuda de la calculadora de tamaño de muestra en línea GRANMO versión 7.12 para estudios de casos y controles.

Se estableció un riesgo alfa de 0.05, contraste bilateral y riesgo beta 0.20. Se consideró una proporción de retinopatía diabética de 0.3. La OR mínima a detectar se estipuló en 2.6 con una razón casos: controles 1:1. Se estimó una tasa de pérdida de 0.1.

7.4 MATERIAL Y MÉTODOS

Los participantes fueron reclutados en campañas de detección de retinopatía diabética realizadas en el Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán (HRAEPY) entre noviembre de 2017 y diciembre de 2018 y en la campaña de detección de retinopatía diabética DIABETIMSS de la Unidad de Medicina Familiar 60 en la ciudad de Mérida, Yucatán en diciembre de 2018. El protocolo de investigación fue aprobado por el

Comité de Ética e Investigación del HRAEPY con número de protocolo HRAEPY 2017-019 (Anexo 1). Previa explicación y firma de consentimiento informado (Anexo 2), a los pacientes se les realizó somatometría y toma de signos vitales; extracción de sangre venosa periférica; historia clínica general y oftalmológica (Anexo 3); recordatorio de dieta de 24 horas (Anexo 4) y frecuencia semanal de alimentos (Anexo 5); revisión de fondo de ojo y fotografías de fondo de ojo con cámara Zeiss Visucam.

Las muestras de sangre se separaron en 2 tubos con EDTA para análisis de hemoglobina glicada y extracción de DNA, y un tubo sin EDTA con gel separador (BD vacutainer) para determinación de glucosa, urea, creatinina, nitrógeno ureico, ácido úrico, colesterol HDL y LDL, VLDL, triglicéridos, proteínas, albúmina, globulina, aspartato aminotransferasa y alanino aminotransferasa. Los análisis bioquímicos se realizaron en el laboratorio del Hospital Juárez de México. La medición de hemoglobina glicada se realizó en el laboratorio del HRAEPY, ambos cuentan con certificación PACAL (Programa de Aseguramiento de la Calidad para los Laboratorios).

La extracción de DNA se realizó en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán (PCYT) mediante técnica modificada de Miller (Anexo 6). Se realizó la cuantificación del DNA y la verificación de pureza con equipo Multiskan GO y Software SkanIt 5.0. Se verificó la integridad del DNA mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (Anexo 7). Se realizó la dilución de cada muestra en agua estéril para obtener una concentración de 20 ng/ μ l y se almacenaron las muestras a -20°C.

La genotipificación se realizó mediante PCR tiempo real con un equipo QuantStudio 5, utilizando sondas TaqMan (Anexo 8).

7.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA
rs2146323	Genotipo del polimorfismo rs2146323	Categórica	Se obtendrá mediante PCR	Homocigoto AA (alelo menor) Homocigoto CC (alelo mayor) Heterocigoto CA
rs4295	Genotipo del polimorfismo rs4295	Categórica	Se obtendrá mediante PCR	Homocigoto CC (alelo menor) Homocigoto GG (alelo mayor) Homocigoto CG
Edad	Número de años cumplidos	Cuantitativa discreta	Se obtendrá según la fecha de nacimiento.	Años
Género	Masculino/femenino	Cualitativa nominal	Masculino/femenino	M/F
Retinopatía diabética	Presencia de micro aneurismas en al menos un ojo	Cualitativa ordinal	Se clasificará mediante la revisión de fondo de ojo bajo dilatación pupilar y fotografías clínicas.	Ausente RDNP leve RDNP moderada RDNP severa RDP
Tiempo de evolución de DT2	Número de años desde el diagnóstico	Cuantitativa discreta	Se obtendrá mediante cuestionario.	Años
Glucemia central	Concentración de glucosa sérica en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica por método enzimático.	mg/dL
HBA1c	Porcentaje de la hemoglobina que se encuentra glicada.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	%
Hb	Concentración de hemoglobina en sangre total.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL

Presión arterial sistólica	Tensión arterial durante la sístole.	Cuantitativa discreta	Se obtendrá con esfigmomanómetro manual.	mmHg
Presión arterial diastólica	Tensión arterial durante la diástole.	Cuantitativa discreta	Se obtendrá con esfigmomanómetro manual.	mmHg
Colesterol total	Concentración de colesterol total sérico en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
Colesterol LDL	Concentración de colesterol LDL sérico en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
Colesterol HDL	Concentración de colesterol HDL sérico en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
Triglicéridos	Concentración de triglicéridos séricos en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
Urea	Concentración de urea sérica en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
Creatinina	Concentración de creatinina sérica en ayuno.	Cuantitativa continua	Se obtendrá a partir de una muestra de sangre periférica.	mg/dL
IMC	Relación entre peso y talla.	Cualitativa nominal	Se obtendrá el cociente del peso sobre la talla elevada al cuadrado.	Kg/m ² Normal: 18.5-24.99 Sobrepeso: 25-29.99 Obesidad I: 30-34.99 Obesidad II: 35-39.99 Obesidad III: ≥ 40
Insuficiencia renal	Pérdida progresiva, permanente e irreversible de la tasa de filtración glomerular a lo largo de un tiempo variable pérdida progresiva, permanente e irreversible de la tasa de filtración glomerular a lo	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Presente/ ausente

	largo de un tiempo variable			
Diálisis	Tratamiento para eliminar residuos de la sangre que ya no pueden ser eliminados por el riñón debido a insuficiencia renal.	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Pie diabético	Ulceración, infección y/o gangrena asociados a neuropatía diabética y diferentes grados de enfermedad arterial periférica	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Amputaciones	Resección quirúrgica de algún miembro secundario a complicaciones de DT2.	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Cardiopatía isquémica	Angina o infarto asociado a DT2.	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Neuropatía diabética	Neuropatía sensorial y motora asociada a DT2.	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Tratamiento	Medicamentos que se administran al sujeto de forma habitual.	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Nombre de el/los medicamentos
Ingesta de alcohol	Ingesta de alcohol	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No
Tabaquismo	Uso de cigarrillos de tabaco	Cualitativa nominal	Se obtendrá mediante cuestionario.	Sí/No

7.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se generó una base de datos codificada anonimizada incluyendo la información de cada una de las variables de estudio, comenzando por las características sociodemográficas de los pacientes, signos vitales, datos somatométricos, antecedentes personales no patológicos y patológicos, antecedentes heredofamiliares, medicamentos, historia clínica oftalmológica, exploración oftalmológica, incluyendo la estadificación de la retinopatía diabética, parámetros bioquímicos y datos de genotipo.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg tanto en el grupo de casos como en el de controles comparando la frecuencia de cada genotipo en los grupos con los genotipos esperados mediante prueba de chi cuadrada. La frecuencia alélica y genotípica de los polimorfismos rs2146323 de *VEGFA* y rs4295 de *ECA* se obtuvieron mediante conteo directo. Las frecuencias obtenidas se compararon entre el grupo de casos y el de controles, así como con las frecuencias reportadas para otras poblaciones en HapMap, mediante chi cuadrada.

Se organizó la descripción de la población estudiada mediante medidas de frecuencia y proporción para las variables categóricas, así como de tendencia central y dispersión para las numéricas. Se obtuvieron gráficas y tablas para representar los resultados. Se usó prueba de Kolmogorov-Smirnoff para determinar la distribución de los datos. Se realizaron contrastes entre grupos estableciendo un nivel de confianza de 95% y las diferencias entre grupos se consideraron significativas cuando $p < 0.05$. Según la normalidad de los datos se aplicó t de Student o U de Mann-Whitney, para comparación de medias entre dos grupos; para comparar entre más de dos grupos se aplicó ANOVA o Kruskal-Wallis. Se usó χ^2 para comparar las proporciones.

Cuando las variables dependientes fueron dicotómicas, se generaron modelos de regresión logística para variables dependientes binarias con estimación de Razón de Momios (RM), de modo que cuando $p < 0.05$, se consideraron directamente asociados (propensión) los

valores con $RM > 1.00$ e inversamente (protección) aquellos con $RM < 1.00$ para variables como complicación o rechazo. El modelo final se estableció con los criterios de máxima verosimilitud y varianza explicada, expresada en la pseudo R^2 .

Todos los análisis de estadística descriptiva, contraste de hipótesis y modelajes inferenciales se realizaron empleando el programa SPSSv.21[©]

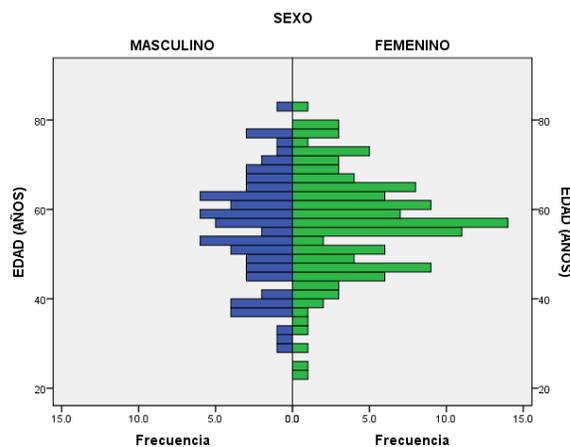
8 RESULTADOS

Se reclutaron 193 sujetos, de los cuales dos no completaron el cuestionario ni la revisión de fondo de ojo, por lo que fueron eliminados. Diecisiete pacientes no completaron el proceso de toma de muestra sanguínea, éstos se incluyeron únicamente en el análisis epidemiológico. Los 19 pacientes eliminados corresponden al 10% de pérdida considerada en el cálculo del tamaño de muestra.

8.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

Para el análisis epidemiológico se incluyeron 191 sujetos con edad promedio de 55.79 ± 11.76 años, de los cuales 62.3% fueron mujeres (figura 4); 32% tenían un apellido Maya y 22% dos apellidos Mayas, el 45% restante no tenía ningún apellido Maya, pero sí lo tenían sus padres o abuelos (figura 5). El 35% eran Maya hablantes (figura 6). Ochenta por ciento eran casados (figura 7) y 92% provenían de medio urbano (figura 8). En las figuras 9 y 10 se muestra la distribución por ocupación y escolaridad.

Figura 4. Distribución del total de la población estudiada por edad y sexo.



Se muestran las frecuencias por edad y sexo

Figuras 5-10: Características sociodemográficas de la población estudiada.

Figura 5. Apellidos Mayas

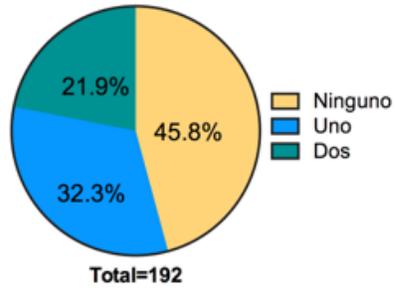


Figura 6. Lengua Maya

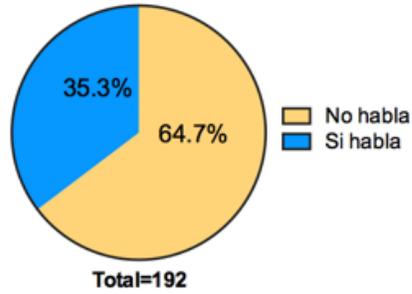


Figura 7. Estado civil

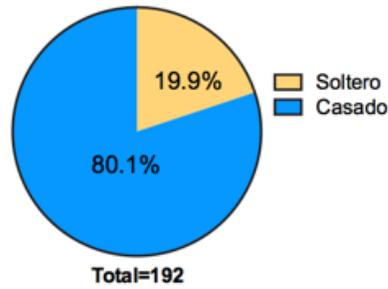


Figura 8. Procedencia

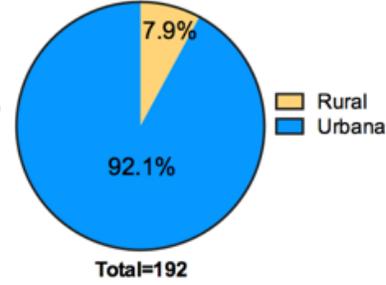


Figura 9. Escolaridad

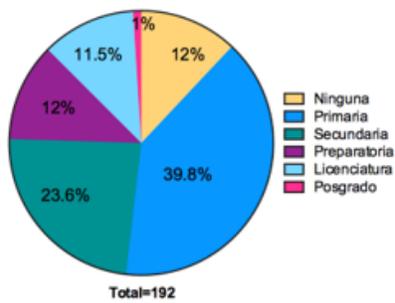
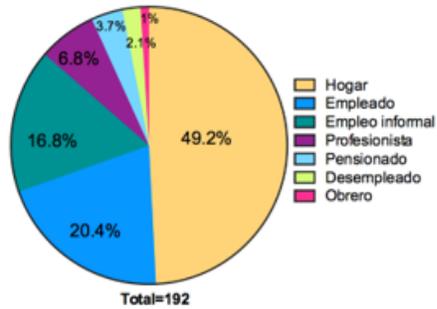


Figura 10. Ocupación



8.2 DIABETES Y COMORBILIDADES

En cuanto a los antecedentes personales patológicos y no patológicos, el 100% de los sujetos tenía diagnóstico de DT2. La edad media de diagnóstico de DT2 fue de 44.5 ± 11.3 años (figura 11). El tiempo de evolución de la DT2 fue de 11.29 ± 8.6 años (figura 12). El 99% tenía un tratamiento establecido (figura 13)

Catorce por ciento fumaban tabaco y 41% consumían alcohol (figuras 14 y 15). Cincuenta y dos por ciento tenían diagnóstico de hipertensión arterial; 43% tenían diagnóstico de hipercolesterolemia y 44% de hipertrigliceridemia (figuras 16-18); 8% tenían antecedente de cardiopatía isquémica; 1% tenía nefropatía diabética; 0.5% requería diálisis por insuficiencia renal; 11.5% tenía pie diabético y 4.7% tenía amputaciones por este motivo.

Figuras 11 y 12. Distribución de la población según la edad de diagnóstico y los años desde el diagnóstico de DT2 (tiempo de evolución)

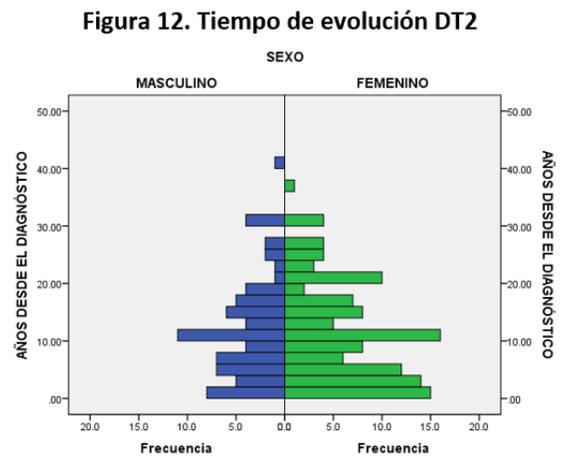
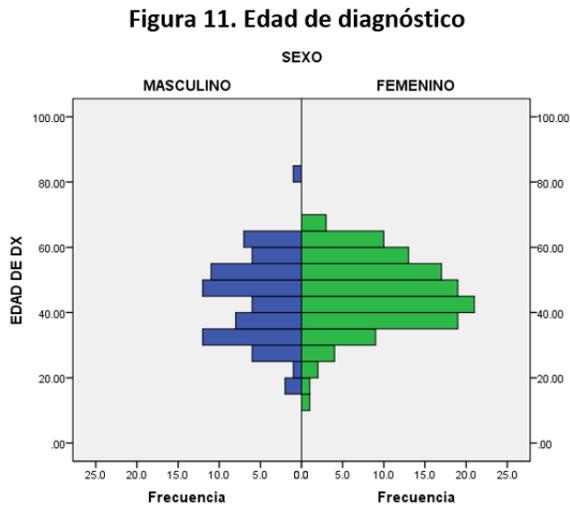
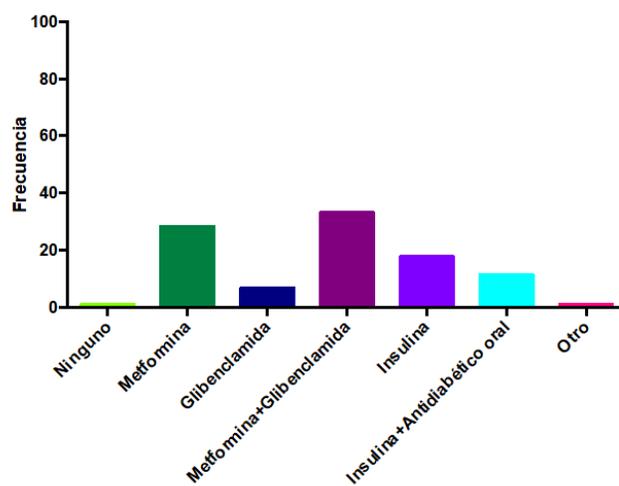


Figura 13. Tratamiento para DT2



Figuras 14-18. Se muestran los porcentajes de sujetos con comorbilidades previamente diagnosticadas y tratadas.

Figura 14. Tabaquismo

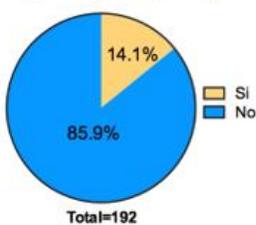


Figura 15. Consumo de alcohol

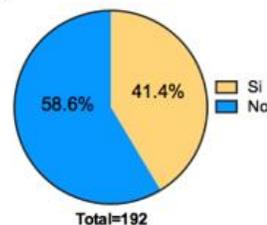


Figura 16. Hipertensión Arterial

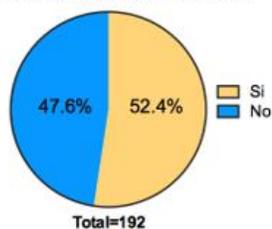


Figura 17. Dx previo hipercolesterolemia

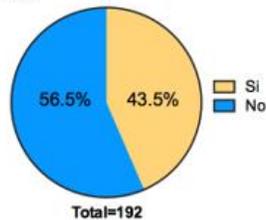
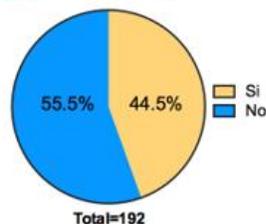


Figura 18. Dx previo hipertrigliceridemia



Los datos somatométricos mostraron que la mitad de los sujetos presentaban talla baja (<1.50mts); 17.6% sobrepeso y 73.1% obesidad según el IMC; el 78% presentó obesidad central de acuerdo al índice cintura-cadera (figuras 19 y 20).

Figuras 19 y 20. Características somatométricas de la población estudiada.

Figura 19. Estratificación por IMC

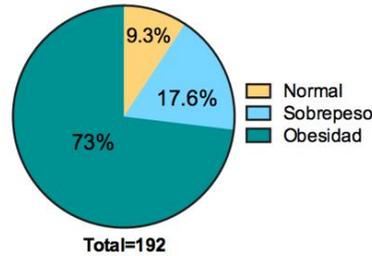
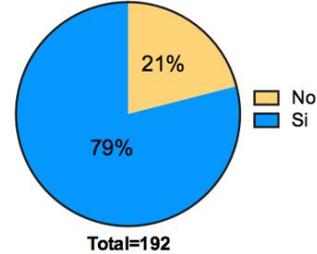


Figura 20. Obesidad central (ICC)



En la figura 19 se muestra el porcentaje de pacientes con sobrepeso y obesidad según su índice de masa corporal (IMC). Se ajustó para talla baja en los casos que así lo requirieron. En la figura 20 se muestra el porcentaje de pacientes con obesidad central según el índice cintura-cadera (ICC)

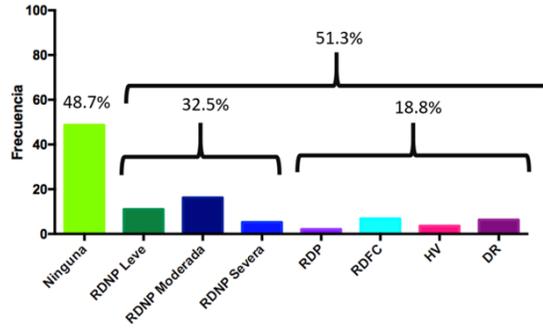
La distribución de los antecedentes heredofamiliares fue DT2 (72.5%); hipertensión (54%); obesidad (37%); hipercolesterolemia (30%) e hipertrigliceridemia (26%).

8.3 RETINOPATÍA DIABÉTICA

En la exploración oftalmológica se encontró al 39.6% de los participantes con catarata; 51% con retinopatía y 9% con edema macular. La distribución de la RD según el estadio, y la frecuencia de edema macular se esquematizan en las figuras 21 y 22.

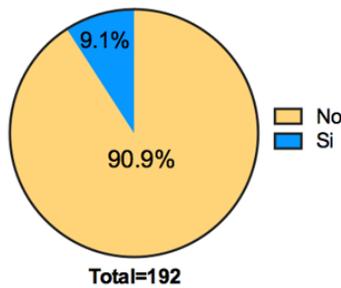
La prueba de concordancia para la clasificación de RD entre los dos observadores arrojó una kappa de 0.72 ($p= 4.6 \times 10^{-11}$). En el caso de edema macular la concordancia kappa fue de 1.0 ($p= 4.7 \times 10^{-8}$).

Figura 21. Retinopatía diabética



Se muestran las frecuencias de cada estadio de RD (RDNP=retinopatía diabética no proliferativa; RDP= retinopatía diabética proliferativa; RDFC= retinopatía diabética fotocoagulada; HV= hemorragia vítrea; DR=desprendimiento de retina).

Figura 22. Edema macular



Se muestra el porcentaje de sujetos con edema macular diabético (EM).

8.4 RESULTADOS BIOQUÍMICOS

Para el análisis bioquímico y genético se incluyeron 176 participantes (88 casos-88 controles), los resultados revelaron descontrol metabólico con la siguiente distribución: 77% con glucosa en ayuno mayor a 130 mg/dl, 72% con HbA1c mayor a 7% (figuras 20 y 21); 40% con hipercolesterolemia (colesterol >200 mg/dL) y 62% hipertrigliceridemia (triglicéridos > 150 mg/dL); 49.7% con hipoalfalipoproteinemia (HDL<50mg/dL). El 13% tenía presión arterial sistólica mayor a 140 mmHg y 7% tenía presión arterial diastólica mayor a 90 mmHg.

Figura 23. Control Glucémico

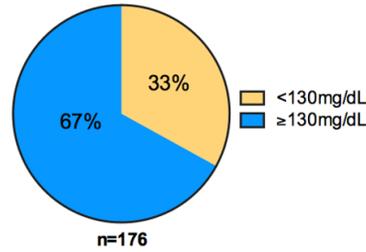
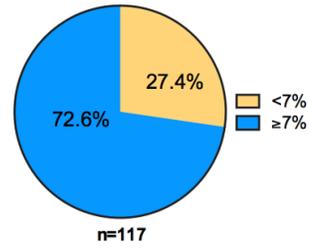


Figura 24. Control HbA1c



En la figura 23 se muestra el porcentaje de sujetos con glucemia en ayuno < 130 mg/dl. En la figura 24 se muestra el porcentaje de sujetos con HbA1c <7%.

8.5 RESULTADOS MOLECULARES

Las frecuencias genóticas y alélicas del polimorfismo rs2146323 de *VEGFA* y rs4295 de *ECA* se muestran la tabla 4, junto con el equilibrio de Hardy-Weinberg. Éste se cumplió para el rs2146323 de *VEGFA* y en el grupo control del rs4295 de *ECA*, pero no se cumplió en el grupo de casos para el rs4295 de *ECA*. No hubo diferencias significativas en las frecuencias alélicas o genóticas entre los casos y los controles.

No se encontró asociación significativa entre los genotipos y la RD en el modelo dominante ni en el recesivo (tabla 5).

Las frecuencias de los alelos de *VEGFA* rs2146323 encontrados en esta población son semejantes con lo reportado en 1000 genomas para poblaciones americanas (0.27), europeas (0.34) y globales (0.28). Las frecuencias de los alelos de *ECA* rs4295 son significativamente diferentes de las reportadas en 1000 genomas para poblaciones europeas (0.37) y globales (0.36). La diferencia no fue significativa respecto a la frecuencia reportada en americanos (0.28).

Tabla 4. Frecuencias alélicas y genotípicas.

VEGFA rs2146323	AA	CC	CA	A	C	HWE
Casos	11.6	45.3	43	33	67	0.77
Controles	11.1	46.7	42.2	32	68	0.73
p	0.98			0.88		
ECA rs4295	CC	GG	CG	C	G	HWE
Casos	11.6	58.1	30.2	27	73	0.02
Controles	6.7	65.6	27.8	21	79	0.21
p	0.43			0.35		

Se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas en porcentajes. Chi cuadrado de Pearson para comparación entre grupos.

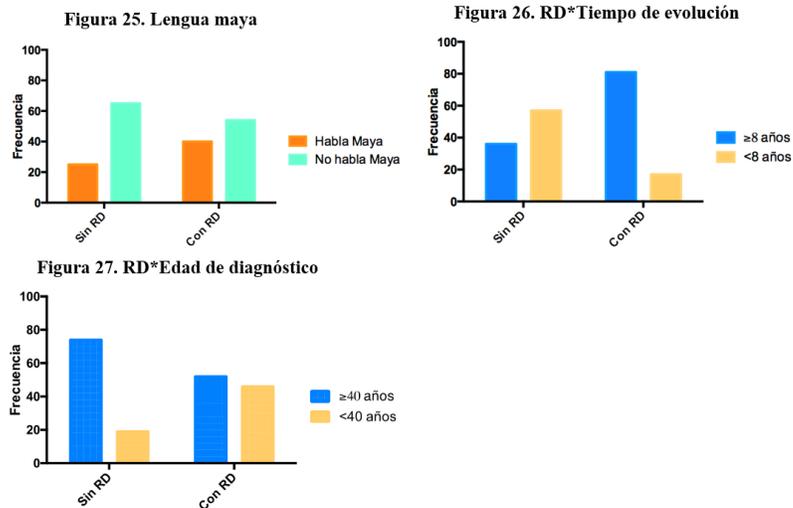
Tabla 5. Ausencia de asociación entre los modelos dominante y recesivo de rs2146323 y rs4295 con RD.

Modelo estadístico	Genotipo	OR	IC 95%	P
<i>VEGFA rs2146323</i>				
Recesivo	AA vs CC+CA	0.89	0.28-2.7	0.84
Dominante	CC vs AA+CA	0.81	0.39-1.67	0.57
<i>ECA rs4295</i>				
Recesivo	CC vs GG+CG	0.92	0.23-3.7	0.91
Dominante	GG vs CC+CG	1.47	0.69-3.1	0.31

Regresión logística multinomial, intervalo de confianza 95%. Covariables: edad, sexo, tiempo de evolución, control glucémico.

8.6 ESTADÍSTICA COMPARATIVA

Al comparar las proporciones entre grupos con y sin retinopatía diabética, las pruebas de chi cuadrado mostraron diferencias en lengua Maya ($p=0.045$), tiempo de evolución mayor a 8 años ($p<0.001$) y edad de diagnóstico menor de 40 años ($p<0.001$). Ver figuras 25 a 27.



Se muestran las proporciones de cada característica en los grupos con y sin retinopatía diabética (RD).

Al comparar a los pacientes con retinopatía referible (no proliferativa severa o peor) con no referible (sin retinopatía, con retinopatía no proliferativa leve o moderada), se encontraron diferencias significativas en la lengua maya ($p=0.002$), tiempo de evolución mayor a 8 años ($p<0.001$) y edad de diagnóstico menor a 40 años ($p<0.001$). Ver figuras 28-30.

Figura 28. RD referible*Lengua Maya

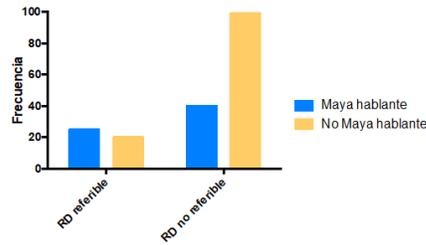


Figura 29. RD referible*Tiempo de evolución

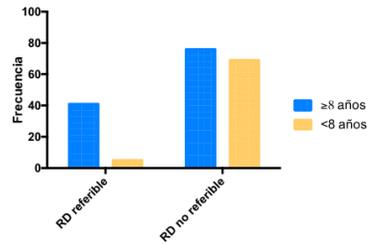
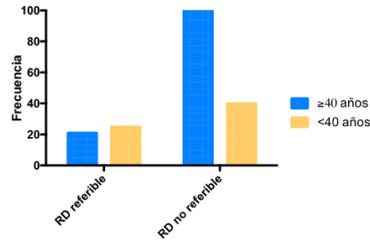


Figura 30. RD referible*Edad de diagnóstico



Se muestran las proporciones de cada característica en personas con retinopatía referible y no referible

En el caso de retinopatía proliferativa vs retinopatía no proliferativa hubo diferencias significativas en sexo ($p=0.021$), medio rural vs urbano ($p=0.04$), lengua Maya ($p=0.03$), tiempo de evolución mayor a 8 años ($p<0.001$) y edad de diagnóstico menor a 40 años ($p=0.003$). Ver figuras 31-34.

Figura 31. RDP*Sexo

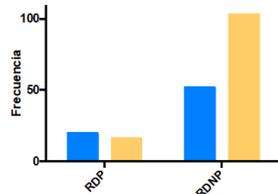


Figura 32. RDP*Lengua Maya

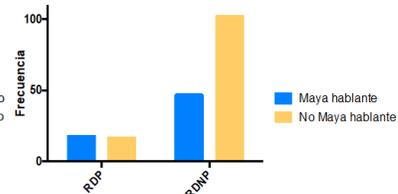


Figura 33. RDP*Tiempo de evolución

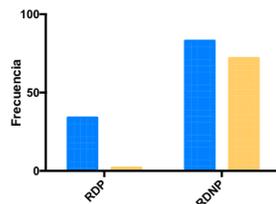
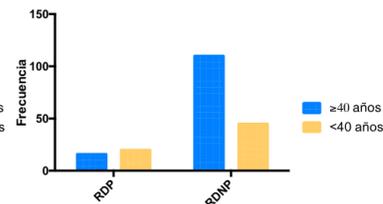


Figura 34. RDP*Edad de diagnóstico



Se muestra la proporción de cada característica en las personas con retinopatía no proliferativa (RDNP) y retinopatía proliferativa (RDP)

La prueba de chi cuadrada para edema macular mostró diferencias en las proporciones de medio rural vs urbano ($p=0.021$), lengua maya ($p=0.001$), presión arterial sistólica mayor a 140 mmHg ($p=0.001$) y tiempo de evolución mayor a 8 años ($p=0.018$). Ver gráficas 35 a 37.

Figura 35. Edema Macular*Lengua Maya

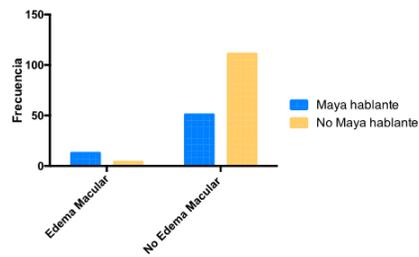


Figura 36. Edema Macular*Tiempo de evolución

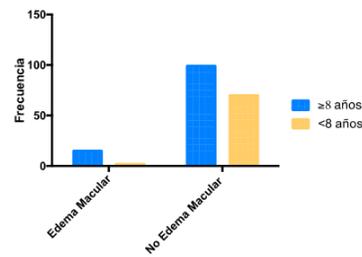
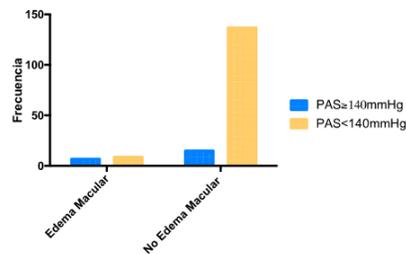


Figura 37. Edema Macular*presión arterial sistémica



Se muestra la proporción de cada característica en personas con y sin edema macular. PAS= presión arterial sistémica

En la comparación de medias de pacientes con y sin retinopatía para las variables con distribución normal (t-student) se encontró diferencia significativa en peso ($p=0.004$), IMC ($p<0.001$), edad de diagnóstico (<0.001) y ácido úrico ($p=0.025$). Las comparaciones de variables no paramétricas se realizaron mediante U-Mann-Whitney, encontrando diferencias en diámetro de cintura ($p=0.031$), diámetro de cadera ($p=0.047$), tiempo de evolución ($p<0.001$), nitrógeno ureico ($p<0.001$), creatinina ($p<0.001$), urea ($p<0.001$), albúmina ($p=0.046$). En la tabla 6 se presentan las medias/medianas con desviación estándar/rangos intercuartílicos, así como la p para las variables investigadas.

Tabla 6. Estadística comparativa Retinopatía Diabética

Variable	Sin retinopatía	Con retinopatía	P
Peso (kg)	75.3±15.7	69±13	0.004
IMC (kg/m²)	32.1±5.7	29±4	<0.001
Edad de diagnóstico (años)	47.6±10.5	41±11	<0.001
Ácido úrico (mg/dl)	4.9±1.6	5.6±1.7	0.025
HbA1c (%)	8.4±2	8.8±2	NS
Presión arterial sistólica (mmHg)	120(110,130)	120(110,130)	NS
Presión arterial diastólica (mmHg)	70(60,80)	70(60,80)	NS
Diámetro cintura (cm)	104(94,112)	100(93,106)	0.031
Diámetro cadera (cm)	110 (102,118)	105(100,112)	0.04
Índice cintura cadera	0.93(0.89,0.97)	0.93(0.89,0.96)	NS
Tiempo de evolución DT2	5(2,10)	15(10,20)	<0.001
Glucosa(mg/dl)	151(113,245)	165(113,227)	NS
Nitrógeno ureico (mg/dl)	14(12,18)	19(15,27)	<0.001
Creatinina (mg/dl)	0.78(0.66,0.9)	0.99(0.77,1.24)	<0.001
Urea (mg/dl)	30(25,38)	39(30,57)	<0.001
Colesterol (mg/dl)	188(154,220)	189(157,213)	NS
Triglicéridos (mg/dl)	177(132,282)	176(132,246)	NS
HDL (mg/dl)	47.5(40,56)	43(37,53)	NS
TG/HDL	3.9(2.6,5.5)	4.4(2.5,6.2)	NS
LDL (mg/dl)	110.5(89,142)	111.6(90,147)	NS
VLDL (mg/dl)	39(27,57)	36(28,50)	NS
Proteínas (mg/dl)	7.8(7.5,18.4)	7.8(7.3,8.1)	NS
Albumina (mg/dl)	4.6(4.3,4.9)	4.5(4.1,4.7)	NS
Globulinas (mg/dl)	3.3(3,3.6)	3.3(3.1,3.6)	NS
Albumina/globulina	1.4(1.3,1.5)	1.3(1.2,1.5)	NS

Comparación de medias entre casos con RD y controles sin RD (t-de Student y U de Mann-Whitney). Se muestra la media ± DE o la mediana con rangos intercuartílicos. Significancia p<0.05 para nivel de confianza 95%. NS=no significativo.

En el caso de edema macular únicamente resultaron significativas las diferencias en tiempo de evolución (p=0.008) y colesterol VLDL (p=0.02). Estos resultados se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Estadística comparativa Edema Macular

Variable	Sin edema macular	Con edema macular	P
Edad (años)	55.3±11.9	60±9	NS
Peso (kg)	72.5±15.2	65±7.3	NS
IMC (kg/m2)	30.7±5.3	28.2±3.2	NS
Edad de diagnóstico (años)	44.5±11.3	44±11.8	NS
Ácido úrico (mg/dl)	5.3±1.7	5.4±1.4	NS
HbA1c (%)	8.6±2	8.8±1.9	NS
Presión arterial sistólica (mmHg)	120(110,130)	115(110,140)	NS
Presión arterial diastólica (mmHg)	70(60,80)	70(62,80)	NS
Diámetro cintura (cm)	102(94,109)	100(95,104)	NS
Diámetro cadera (cm)	107(101,115)	106(100,112)	NS
Índice cintura cadera	0.93(0.89,0.97)	0.92(0.89,0.97)	NS
Tiempo de evolución DT2 (años)	10(4,16)	16(13,18)	0.008
Glucosa (mg/dL)	163(114,244)	131(104,217)	NS
Nitrógeno ureico (mg/dL)	17(13,22)	18(13,28)	NS
Creatinina (mg/dL)	0.87(0.72,1.13)	0.99(0.74,1.1)	NS
Urea (mg/dL)	35(28,46.7)	39(28,56)	NS
Colesterol (mg/dL)	188(154,218)	175(158,205)	NS
Triglicéridos (mg/dL)	180(132,277)	155(109,179)	NS
HDL (mg/dL)	45(37,53)	48(40,65)	NS
TG/HDL	4.2(2.7,6)	3.3(1.9,4.9)	NS
LDL (mg/dL)	111(89,146)	111(88,125)	NS
VLDL (mg/dL)	39(28,57)	31(21,35)	0.02
Proteínas (mg/dL)	7.9(7.4,8.3)	7.4(6.7,8)	NS
Albumina (mg/dL)	4.6(4.3,4.8)	4.2(4,4.7)	NS
Globulinas (mg/dL)	3.3(3.1,3.7)	3.2(2.5,3.4)	NS
Albumina/globulina	1.4(1.2,1.5)	1.4(1.3,1.6)	NS

Comparación de medias entre casos con y sin edema macular (t-de Student y U de Mann-Whitney). Se muestra la media ± DE o la mediana con rangos intercuartílicos. Significancia p<0.05 para nivel de confianza 95%. NS=no significativo

El grado de retinopatía diabética se correlacionó con: peso (p=0.011), IMC (p=0.002), ácido úrico (p<0.001), edad de diagnóstico (p<0.001), diámetro de cadera (p=0.046),

tiempo de evolución de la diabetes ($p < 0.001$), nitrógeno ureico ($p < 0.001$), urea ($p < 0.001$), creatinina ($p < 0.001$) y albúmina ($p = 0.009$).

Se realizó regresión logística multinomial para corroborar la relación entre lengua maya y retinopatía diabética, ajustando por edad, género y tiempo de evolución. Se obtuvo una diferencia significativa ($p = 0.004$) con un OR de 3.5 (IC 1.5-8.2). En el caso de edema macular, se corroboró la relación con lengua maya con una $p = 0.003$, OR 7.9 (IC 2.03, 30.8). La presión arterial sistólica mayor a 140 mmHg confiere un OR de 5.8 (IC 1.8-18.9) para desarrollar edema macular ($p = 0.003$).

8.7 ANÁLISIS NUTRICIONAL

En el análisis nutricional se encontró que los pacientes con retinopatía consumen mayor porcentaje de proteínas, y menos carbohidratos, fibra y hierro que los pacientes sin retinopatía.

Tabla 8. Análisis nutricional en retinopatía diabética

Variable	Sin retinopatía	Con retinopatía	p
Proteínas (%)	18(14,20)	20(16,26)	0.005
Carbohidratos (gr)	191(138,273)	179(113,218)	0.017
Carbohidratos (kcal)	766.8(553,1092)	718(454,872)	0.017
Hierro (mg)	11(8,16)	9.5(7.1,12.2)	0.019
Fibra (gr)	16(9,23)	11.2(7.6,18.5)	0.007

Comparación de medias entre casos con y sin RD (t-de Student y U de Mann-Whitney). Se muestra la media \pm DE o la mediana con rangos intercuartílicos. Significancia $p < 0.05$ para nivel de confianza 95%

Los pacientes con edema macular consumieron menos kilocalorías, lípidos, proteínas y calcio que los pacientes sin edema macular.

Tabla 9. Análisis nutricional edema macular

Variable	Sin edema macular	Con edema macular	p
Kcal totales	1426(1111,1827)	1136(785,1468)	0.028
Proteínas (gr)	71.3(53,90)	55(34,70)	0.02
Proteínas (kcal)	285(215,362)	221(139,281)	0.02
Lípidos (gr)	45(29,62)	20(13,43)	0.005
Lípidos (kcal)	408(262,559)	181(123,393)	0.005
Calcio (mg)	580(347,868)	403(147,744)	0.032

Comparación de medias entre casos con y sin EM (t-de Student y U de Mann-Whitney). Se muestra la media \pm DE o la mediana con rangos intercuartílicos. Significancia $p < 0.05$ para nivel de confianza 95%

9 DISCUSIÓN

La población estudiada consistió en su mayoría de mujeres (63%), con edad promedio de 56 años. No hubo diferencias significativas en edad y sexo entre los grupos con y sin retinopatía. Los participantes provenían de medio urbano, es decir, de poblados con más de 2500 habitantes. No fue motivo de este trabajo la evaluación del nivel socioeconómico, sin embargo, el máximo grado de estudios puede funcionar como una medida indirecta: donde tres cuartas partes de los participantes tenía solo educación básica.

Otros estudios de incidencia y prevalencia de RD en México reportan promedios de edad de 55 a 65 años, igualmente con una mayoría de mujeres (91,123).

El 99% de los participantes contaba con tratamiento para la diabetes, pero solo el 30% tenían un adecuado control de la glucemia y la HbA1c. La edad de diagnóstico promedio fue de 44 ± 11 años. El 75% de los pacientes tenían antecedente heredofamiliar de DT2. El 80% presentó el IMC e ICC alterado. Esto podría estar relacionado con la teoría del genotipo ahorrador que en ciertas poblaciones, como la americana, la habilidad para ahorrar y almacenar energía confería una ventaja evolutiva durante las migraciones prolongadas, y que las variantes genéticas que determinan estas características están más conservadas en las poblaciones americanas, lo que las predispone, en el actual ambiente de alta disponibilidad de alimentos, a la obesidad y a la diabetes (124).

Se ha descrito previamente que los pacientes con diagnóstico de DT2 antes de los 45 años de edad tienen mayor riesgo de complicaciones macrovasculares y microalbuminuria. Los pacientes con DT2 de inicio temprano (<45 años) también tienden a tener más componentes del síndrome metabólico, lo que puede contribuir a mayor susceptibilidad para el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares, y al difícil control metabólico. El índice de masa corporal se ha relacionado inversamente con la edad de inicio de la DT2 (125–127). La edad de inicio de diabetes reportada para mexico-americanos de San Antonio, Texas fue de 47 a 53 años, esta edad se consideró temprana y se relacionó con loci específicos para inicio temprano de DT2 (128).

La prevalencia de RD en este estudio fue de 52%, lo que es superior al 35% reportado a nivel mundial, y al 38% reportado para México (7). La prevalencia que encontramos es más consistente con el 54% de diabéticos que reportaron pérdida visual en ENSANUT 2016, aunque en esta encuesta no se especifica la causa de pérdida visual, y es muy probable que este porcentaje se refiera también a la pérdida visual por catarata (129). Rodríguez-Villalobos realizó un estudio de cohortes basado en población en personas con diabetes no insulino dependiente de León, Guanajuato, México entre 1992 y 2004. Encontró una incidencia de RD de 71% y una progresión de 72% a 12 años, pero no reportó prevalencia (91). Prado-Serrano realizó un estudio retrospectivo que incluyó 13670 personas con DT1 y DT2 que acudieron al servicio de Oftalmología del Hospital General de México entre 1978 y 2008, la prevalencia de RD fue de 71%, de los cuales 63% tenía variedad proliferativa; el edema macular se encontró en 16% de las personas estudiadas (123). Estas altísimas prevalencias probablemente se deban a que el estudio se realizó entre pacientes de un servicio de oftalmología, y que el diagnóstico y clasificación se realizaron mediante fluorangiografía de retina, la cual tiene mayor sensibilidad para RDP y EM.

En el presente estudio el edema macular estuvo presente en 9% de los casos, lo que es mayor a lo reportado a nivel internacional, pero coincide con lo descrito en la población Maya de la región de Chiapas (130). El 25% de los pacientes requerían ser referidos y tratados por un especialista, sin embargo, la mayoría nunca habían sido revisados. El 18% tienen o han tenido proliferación que amenaza a la pérdida visual. La proporción de pacientes que requieren intervención, pero nunca han sido revisados es alta, de ahí la importancia de desarrollar sistemas de detección y referencia adecuados para estas poblaciones. Mendoza-Herrera propuso una herramienta de tamizaje para RD en adultos de bajos ingresos en México. Evaluó variables bioquímicas, antropométricas, clínicas y sociodemográficas de 1000 adultos con diabetes en comunidades de bajos ingresos en México entre 2014 y 2016. El promedio de edad fue de 57 años, el 73% fueron mujeres; 31.7% tuvieron RD y 7.1% tuvieron RDP activa. Los factores de riesgo encontrados fueron: resistencia a la insulina, falta de actividad física, descontrol glucémico (>126 mg/dl), presión arterial sistólica >140 mmHg (37).

Los tres factores que se relacionaron consistentemente con la RD fueron: tiempo de evolución, edad de diagnóstico y lengua Maya. El principal factor asociado a RD y EM fue el tiempo de evolución, el cual es el principal factor de riesgo conocido para RD (7,29,30,113,131). Esto es debido a que el efecto de la hiperglucemia sobre las células nerviosas y la vasculatura de la retina es crónico. Sin embargo, la variabilidad interindividual en el momento de presentación de RD no se explica únicamente por el control glucémico. En el presente estudio encontramos que algunos participantes desarrollaron retinopatías muy severas con menos de 5 años de evolución y otros no presentaron RD después de 20 o 30 años del diagnóstico de DT2, a pesar de tener muy mal control glucémico. Estos fenotipos extremos pueden permitirnos identificar factores de susceptibilidad y factores protectores para RD. A futuro, el reclutamiento de más personas con fenotipos extremos podría ser una buena estrategia para identificar polimorfismos de riesgo o de protección para la RD.

En nuestro estudio, la edad temprana de diagnóstico se relacionó con la RD. Esto coincide con diversos estudios que evidencian una aparición más frecuente y temprana de complicaciones micro y macro vasculares en las personas diagnosticadas con DT2 antes de los 45 años (81,125,126).

La presión arterial sistólica mayor de 140 mmHg se relacionó con EM. Otros estudios coinciden en que la presión arterial sistólica aumenta el riesgo de complicaciones micro y macrovasculares en diabéticos (35,131). Llama la atención que, a diferencia de otros estudios, no se encontró relación de la glucemia en ayuno o de la HbA1c con la RD. Esto puede atribuirse a la naturaleza transversal del estudio, ya que se desconocen los valores de glucemia y HbA1c de los sujetos antes de desarrollar la RD. Otra posible explicación es que el porcentaje de participantes con descontrol glucémico es muy alto en ambos grupos, por lo cual no se logra apreciar una tendencia.

La edad de inicio temprana, los antecedentes heredofamiliares de DT2 y la lengua Maya apuntan hacia factores genéticos de susceptibilidad para DT2 y sus complicaciones. Diversos estudios han encontrado mayor riesgo para RD en personas con ascendencia mexicana (115,128,132). Está descrito que la genética de la población mexicana contiene

componentes ancestrales únicos que se relacionan con mayor severidad de enfermedades metabólicas, por ejemplo, portar la variante R230C del gen ABCA1 tiene un efecto tan importante en el metabolismo, que en niños mexicanos en edad escolar se ha relacionado con niveles altos de triglicéridos y niveles bajos de colesterol HDL (92,93,133).

Además de la ancestría, la lengua Maya también puede relacionarse con una mayor marginación, menor nivel educativo, menor cultura de la salud, menor acceso a los servicios médicos. Como se mencionó anteriormente, en este estudio se considero como parámetro indicativo del nivel socioeconómico la escolaridad. En el análisis multivariado la escolaridad se relacionó con la RD hallazgo predecible si se considera que la baja escolaridad se relaciona con la lengua Maya.

El peso, el IMC y el diámetro de cintura y de cadera son menores en los pacientes con RD. Esto puede deberse a cambios de los hábitos después de haber presentado una complicación. También es posible que al tener más tiempo de evolución puedan tener otras complicaciones como nefropatía, gastropatía, pérdida del apetito, mayor deficiencia de insulina, mayor catabolismo y caquexia.

El ácido úrico, el nitrógeno ureico, la creatinina y la urea fueron consistentemente mayores en los pacientes con RD. Esto probablemente esté relacionado con una disminución subclínica de la función renal por microangiopatía, aunque 99% de los sujetos estudiados no tenían insuficiencia renal ni nefropatía diabética diagnosticada. Estos parámetros podrían servir como indicadores para la referencia al especialista para revisión del fondo de ojo, y viceversa, los pacientes con retinopatía deben ser evaluados por el nefrólogo. La asociación del ácido úrico con RD y su papel en la fisiopatogenia de la misma ha sido explorado en diversas instancias: estudios en japoneses y taiwaneses coinciden en que el ácido úrico elevado es un factor de riesgo independiente para RD. Se ha propuesto que el mecanismo de acción está relacionado con aumento de señalización en la vía Notch, lo que aumenta la inflamación y el estrés oxidativo. El uso de alopurinol en ratas ha reducido los efectos del ácido úrico y la glucosa en el estrés oxidativo (43,134–137).

Nutricionalmente, en promedio todos los sujetos llevan dietas hipocalóricas y muy bajas en fibra. Los sujetos con RD consumían más proteínas y menos carbohidratos que los sujetos

sin RD. Los sujetos con edema macular consumían menos calorías, proteínas y lípidos que los sujetos sin edema macular. Esto pudiera ser atribuible a cambios en la dieta iniciados a partir de la aparición de complicaciones, como la disminución de la visión. Adicionalmente, los sujetos con RD consumían significativamente menos hierro y fibra que los sujetos sin RD. La deficiencia de hierro puede contribuir a la hipoxia, que es uno de los principales mecanismos fisiopatogénicos de la RD. La falta de fibra en la dieta por un lado afecta la absorción intestinal, y por otro lado afecta a la microbiota intestinal. Ambos mecanismos podrían afectar a los niveles de glucemia, inflamación, y por consiguiente a la RD. Otros estudios han encontrado un efecto protector de la fibra dietética contra RD (138–140). Los pacientes con edema macular consumían significativamente menos calcio que los sujetos sin edema macular. El calcio puede jugar un papel en la permeabilidad vascular y en las interacciones de las células endoteliales y los pericitos, los cuales juegan un papel fundamental en el edema macular (141,142).

El polimorfismo rs4295 de *ECA* no cumplió con el equilibrio de Hardy-Weinberg, por lo que no son aplicables los análisis del mismo. La frecuencia del alelo menor fue mayor de lo esperado en la población yucateca, lo que indica que esta variante podría haber presentado una ventaja evolutiva en esta población. La frecuencia alélica en yucatecos fue semejante a la reportada en americanos y mexicanos, pero fue significativamente diferente de la reportada en europeos en 1000 genomas. Sería interesante explorar la relación de esta variante con la hipertensión arterial y la nefropatía diabética, que son aún más frecuentes que la RD en estas poblaciones, sin embargo, en este estudio no fue posible realizar la asociación entre la variante y la hipertensión arterial dado que los pacientes tenían tratamiento con antihipertensivos (137,143).

El polimorfismo rs2146323 de *VEGFA* cumplió con el equilibrio de Hardy Weinberg. Los análisis de asociación fueron negativos para RD y edema macular. Sin embargo, hay estudios que contrastan, Yang et al reportó asociación del haplotipo GAA de rs2010963/rs833069/rs2146323 con RD en chinos (87). Un metaanálisis que incluyó estudios en asiáticos (chinos) y caucásicos (australianos, finlandeses e ingleses) se confirmó la asociación del rs2146323 con RD (107). Este mismo polimorfismo mostró que el

homocigoto del alelo menor es un factor de riesgo para progresión de RD en japoneses con DT1, aunque esta asociación fue tan solo marginalmente significativa (106). En Turquía se encontró una tendencia de asociación del rs2146323 con la severidad de la RD (103). A pesar de que este SNP ha mostrado asociación con RD en poblaciones asiáticas y caucásicas, esto no fue replicado en la población yucateca en el presente estudio.

La ausencia de asociación entre los polimorfismos genéticos y la RD puede deberse a que tienen un origen cáucasicos y dado el componente genético Maya de la población estudiada es entendible el resultado, por otro lado el hecho de que se asoció la lengua Maya con la RD sugiere fuertemente la presencia de polimorfismos propios del componente genético Maya que están implicados en el desarrollo de la RD en esta población. Este fondo genético de susceptibilidad al desarrollo de la RD debe ser investigado para sentar las bases de la medicina personalizada en esta población. En el futuro estudios de los fenotipos extremos, GWAS y nuevas técnicas de secuenciación nos permitirán una mayor comprensión de los factores genéticos subyacentes a la RD en nuestra población.

10 CONCLUSIONES

- La frecuencia de RD en la población Maya es superior a la media nacional e internacional.
- Los polimorfismos rs4295 de *ECA* y el rs2146323 *VGFA* no se asocian a la RD.
- La asociación de la lengua Maya y la RD sugiere la existencia de polimorfismos genéticos involucrados en el desarrollo de esta complicación propios de la población Maya.
- Es necesario profundizar en el estudio de los factores genéticos y ambientales subyacentes al desarrollo de la RD.

11 BIBLIOGRAFÍA

1. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet* [Internet]. 2014;383(9911):69–82. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
2. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus [Internet]. 2004 [cited 2019 May 23]. Available from: http://care.diabetesjournals.org/content/diacare/27/suppl_1/s5.full.pdf
3. IFD. ATLAS DE LA DIABETES 2015. 2015.
4. INSP. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. 2012.
5. Lara-Riegos JC, Ortiz-López MG, Peña-Espinoza BI, Montúfar-Robles I, Peña-Rico MA, Sánchez-Pozos K, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNFa, KCNJ11, PPARy, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene*. 2015;565:68–75.
6. Klein R, Myers CE, Lee KE, Klein BEK. 15-Year Cumulative Incidence and Associated Risk Factors for Retinopathy in Nondiabetic Persons. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2010 Dec 13 [cited 2017 Oct 2];128(12):1568. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21149781>
7. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Oct 2];35(3):556–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22301125>
8. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, et al. UKPDS 50: risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia* [Internet]. 2001 Feb 5 [cited 2017 Oct 2];44(2):156–63. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s001250051594>
9. Fullerton B, Jeitler K, Seitz M, Horvath K, Berghold A, Siebenhofer A. Intensive glucose control versus conventional glucose control for type 1 diabetes mellitus. In: Fullerton B, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014 [cited 2017 Oct 2]. p. CD009122. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24526393>
10. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* [Internet]. 2000 Aug 12 [cited 2017 Oct 2];321(7258):405–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10938048>

11. Mauricio Hernández-Ávila, DSc,(1) Juan Pablo Gutiérrez, PhD,(2) Nancy Reynoso-Noverón Ds (3. Salud pública de México. *Salud Publica Mex* [Internet]. 2013 [cited 2017 Oct 1];55:s129–36. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0036-36342013000800009&script=sci_arttext
12. Mazhar K, Varma R, Choudhury F, McKean-Cowdin R, Shtir CJ, Azen SP, et al. Severity of diabetic retinopathy and health-related quality of life: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Apr [cited 2017 Oct 2];118(4):649–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21035872>
13. Wu L, Fernandez-Loaiza P, Sauma J, Hernandez-Bogantes E, Masis M. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes* [Internet]. 2013 Dec 15 [cited 2017 Aug 14];4(6):290–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24379919>
14. Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs—An Extension of the Modified Airlie House Classification: ETDRS Report Number 10. *Ophthalmology* [Internet]. 1991 May [cited 2017 Nov 2];98(5):786–806. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062513>
15. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of diabetic retinopathy. XIV. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)* [Internet]. 1994 Sep [cited 2017 Oct 2];112(9):1217–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7619101>
16. Wilkinson C., Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* [Internet]. 2003 Sep [cited 2019 Apr 4];110(9):1677–82. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161642003004755>
17. van der Heijden AA, Abramoff MD, Verbraak F, van Hecke M V, Liem A, Nijpels G. Validation of automated screening for referable diabetic retinopathy with the IDx-DR device in the Hoorn Diabetes Care System. *Acta Ophthalmol* [Internet]. 2018 Feb [cited 2019 Apr 4];96(1):63–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29178249>
18. Pusparajah P, Lee L-H, Abdul Kadir K. Molecular Markers of Diabetic Retinopathy: Potential Screening Tool of the Future? *Front Physiol* [Internet]. 2016 [cited 2017 Oct 2];7:200. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313539>
19. Ljubimov A V. Diabetic complications in the cornea. *Vision Res* [Internet]. 2017 Apr 28 [cited 2017 Aug 18]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042698917300470>

20. Kesarwani D, Rizvi SWA, Khan AA, Amitava AK, Vasenwala SM, Siddiqui Z. Tear film and ocular surface dysfunction in diabetes mellitus in an Indian population. *Indian J Ophthalmol* [Internet]. 2017 Apr [cited 2017 Aug 18];65(4):301–4. Available from: <http://www.ijo.in/text.asp?2017/65/4/301/206336>
21. Vieira-Potter VJ, Karamichos D, Lee DJ. Ocular Complications of Diabetes and Therapeutic Approaches. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2017 Oct 2];2016:3801570. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27119078>
22. Bikbova G, Oshitari T, Baba T, Yamamoto S. Neuronal Changes in the Diabetic Cornea: Perspectives for Neuroprotection. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 18];2016:5140823. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/5140823/>
23. Jenkins AJ, Joglekar M V, Hardikar AA, Keech AC, O 'neal DN, Januszewski AS. Biomarkers in Diabetic Retinopathy. [cited 2017 Sep 8]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5397989/pdf/RevDiabeticStud-12-159.pdf>
24. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano MR, Costagliola C. Diabetic Retinopathy: Vascular and Inflammatory Disease. *J Diabetes Res* [Internet]. 2015 [cited 2017 Oct 2];2015:582060. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26137497>
25. Li C, Miao X, Li F, Wang S, Liu Q, Wang Y, et al. Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2017 [cited 2017 Oct 2];2017:9702820. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28265339>
26. Cheng L, Yu H, Yan N, Lai K, Xiang M. Hypoxia-Inducible Factor-1 α Target Genes Contribute to Retinal Neuroprotection. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2017 Feb 27 [cited 2017 Oct 2];11. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2017.00020/full>
27. Villarroel M, Ciudin A, Hernández C, Simó R, Gregory ;, Liou I. Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World J Diabetes* [Internet]. 2010 [cited 2019 Apr 4];1(2). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083883/pdf/WJD-1-57.pdf>
28. Abcouwer SF. Angiogenic Factors and Cytokines in Diabetic Retinopathy. *J Clin Cell Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2017 Oct 2];Suppl 1(11):1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24319628>
29. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, et al. UKPDS 50: Risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia* [Internet]. 2001 Feb 5 [cited 2017 Oct 2];44(2):156–63. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11270671>

30. Xu J, Xu L, Wang YX, You QS, Jonas JB, Wei W Bin. Ten-year cumulative incidence of diabetic retinopathy. The Beijing Eye Study 2001/2011. PLoS One [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];9(10):e111320. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25347072>
31. Boulet MM, Chevrier G, Grenier-Larouche T, Pelletier M, Nadeau M, Scarpa J, et al. Alterations of plasma metabolite profiles related to adipose tissue distribution and cardiometabolic risk. Am J Physiol - Endocrinol Metab [Internet]. 2015;309(8):E736–46. Available from: <http://ajpendo.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajpendo.00231.2015>
32. Aiello LP, DCCT/EDIC Research Group for the DR. Diabetic retinopathy and other ocular findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. Diabetes Care [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];37(1):17–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24356593>
33. Colagiuri S, Lee CM, Wong TY, Balkau B, Shaw JE, Borch-johnsen K. Glycemic Thresholds for Diabetes-Specific Retinopathy Implications for diagnostic criteria for diabetes THE DETECT-2 COLLABORATION WRITING GROUP*. [cited 2017 Aug 20]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3005450/pdf/zdc145.pdf>
34. Mattila TK, de Boer A. Influence of Intensive versus Conventional Glucose Control on Microvascular and Macrovascular Complications in Type 1 and 2 Diabetes Mellitus. Drugs [Internet]. 2010 Dec 3 [cited 2017 Oct 2];70(17):2229–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21080740>
35. Adler AI, Stratton IM, Neil HA, Yudkin JS, Matthews DR, Cull CA, et al. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. BMJ [Internet]. 2000 Aug 12 [cited 2017 Oct 2];321(7258):412–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10938049>
36. Do D V, Wang X, Vedula SS, Marrone M, Sleilati G, Hawkins BS, et al. Blood pressure control for diabetic retinopathy. Cochrane database Syst Rev [Internet]. 2015 Jan 31 [cited 2017 Oct 2];1:CD006127. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25637717>
37. Mendoza-Herrera K, Quezada AD, Pedroza-Tobías A, Hernández-Alcaraz C, Fromow-Guerra J, Barquera S. A Diabetic Retinopathy Screening Tool for Low-Income Adults in Mexico. Prev Chronic Dis [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 4];14:170157. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5645201/pdf/PCD-14-E95.pdf>

38. Chew EY, Klein ML, Ferris FL, Remaley NA, Murphy RP, Chantry K, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Report 22. *Arch Ophthalmol* (Chicago, Ill 1960) [Internet]. 1996 Sep [cited 2017 Oct 2];114(9):1079–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8790092>
39. Lyons TJ, Jenkins AJ, Zheng D, Lackland DT, McGee D, Garvey WT, et al. Diabetic retinopathy and serum lipoprotein subclasses in the DCCT/EDIC cohort. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2004 Mar [cited 2017 Oct 2];45(3):910–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14985310>
40. Cohen RA, Hennekens CH, Christen WG, Krolewski A, Nathan DM, Peterson MJ, et al. Determinants of retinopathy progression in type 1 diabetes mellitus. *Am J Med* [Internet]. 1999 Jul [cited 2017 Oct 2];107(1):45–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10403352>
41. Wang X, Tang L, Gao L, Yang Y, Cao D, Li Y. Myopia and diabetic retinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2016 Jan [cited 2017 Oct 2];111:1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26531140>
42. Man RE, Sasongko MB, Wang JJ, Lamoureux EL. Association between myopia and diabetic retinopathy: a review of observational findings and potential mechanisms. *Clin Experiment Ophthalmol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2017 Oct 2];41(3):n/a-n/a. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22958192>
43. Yanko L, Goldbourt U, Michaelson IC, Shapiro A, Yaari S. Prevalence and 15-year incidence of retinopathy and associated characteristics in middle-aged and elderly diabetic men. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 1983 Nov [cited 2017 Oct 2];67(11):759–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6639910>
44. Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes* [Internet]. 2015 Apr 15 [cited 2017 Oct 2];6(3):489–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25897358>
45. Reddy MA, Zhang E, Natarajan R. Epigenetic mechanisms in diabetic complications and metabolic memory. *Diabetologia* [Internet]. 2015 Mar [cited 2017 Oct 2];58(3):443–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25481708>
46. Qing S, Yuan S, Yun C, Hui H, Mao P, Wen F, et al. Serum miRNA biomarkers serve as a fingerprint for proliferative diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(5).
47. You Z-P, Zhang Y-L, Shi K, Shi L, Zhang Y-Z, Zhou Y, et al. Suppression of diabetic retinopathy with GLUT1 siRNA. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Aug 7 [cited 2017 Nov 2];7(1):7437. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28785055>

48. West SK, Klein R, Rodriguez J, Muñoz B, Broman AT, Sanchez R, et al. Diabetes and diabetic retinopathy in a Mexican-American population: Proyecto VER. *Diabetes Care* [Internet]. 2001 Jul [cited 2017 Oct 2];24(7):1204–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11423503>
49. Frank RN. Diabetic retinopathy and systemic factors. *Middle East Afr J Ophthalmol* [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 20];22(2):151–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25949071>
50. Zhang X, Saaddine JB, Chou C-F, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. *JAMA* [Internet]. 2010 Aug 11 [cited 2017 Oct 2];304(6):649–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20699456>
51. Cho H, Sobrin L. Genetics of diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2014 Aug [cited 2017 Sep 27];14(8):515. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24952107>
52. Awata T, Yamashita H, Kurihara S, Morita-Ohkubo T, Miyashita Y, Katayama S, et al. A genome-wide association study for diabetic retinopathy in a Japanese population: potential association with a long intergenic non-coding RNA. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];9(11):e111715. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25364816>
53. Grassi MA, Tikhomirov A, Ramalingam S, Below JE, Cox NJ, Nicolae DL. Genome-wide meta-analysis for severe diabetic retinopathy. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2011 Jun 15 [cited 2017 Oct 2];20(12):2472–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21441570>
54. Petrovii D. Candidate Genes for Proliferative Diabetic Retinopathy. *Biomed Res Int* [Internet]. 2013 [cited 2017 Aug 20];540416. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/540416>
55. Shtir C, Aldahmesh MA, Al-Dahmash S, Abboud E, Alkuraya H, Abouammoh MA, et al. Exome-based case–control association study using extreme phenotype design reveals novel candidates with protective effect in diabetic retinopathy. *Hum Genet*. 2016;135(2):193–200.
56. Zhou D, Ruitter R, Zhang J, Zhou M, Liu H, Liu W, et al. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism is not associated with type 2 diabetes in a Chinese population. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* [Internet]. 2012;13(3):372–8. Available from: <http://jra.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/1470320311435535>
57. Deng Y, Yang X, Gu H, Lim A, Ulziibat M, Snellingen T, et al. Association of C(-106)T polymorphism in aldose reductase gene with diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Med Sci J = Chung-kuo i hsueh k'o hsueh tsa chih* [Internet]. 2014 Mar [cited 2017 Oct 2];29(1):1–6. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24698671>

58. Beránek M, Kaňková K, Beneš P, Izakovičová-Hollá L, Znojil V, Hájek D, et al. Polymorphism R25P in the gene encoding transforming growth factor-beta (*TGF-β₁*) is a newly identified risk factor for proliferative diabetic retinopathy. *Am J Med Genet* [Internet]. 2002 May 15 [cited 2017 Oct 3];109(4):278–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11992481>
59. Katakami N, Kaneto H, Takahara M, Matsuoka TA, Imamura K, Ishibashi F, et al. Aldose reductase C-106T gene polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2011 Jun [cited 2017 Oct 2];92(3):e57–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21420193>
60. Fan Y, Fu Y-Y, Chen Z, Hu Y-Y, Shen J. Gene-gene interaction of erythropoietin gene polymorphisms and diabetic retinopathy in Chinese Han. *Exp Biol Med (Maywood)* [Internet]. 2016 Aug [cited 2017 Oct 3];241(14):1524–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27190272>
61. 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 Experiment Ophthalmol* [Internet]. 2014 May [cited 2017 Oct 3];42(4):369–78. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/ceo.12182>
62. Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, Ramasamy K, Govindarajan G, Perumalsamy N, et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Med Genet* [Internet]. 2010 Nov 10 [cited 2017 Oct 3];11:158. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21067572>
63. Amano S, Yamagishi S, Koda Y, Tsuneoka M, Soejima M, Okamoto T, et al. Polymorphisms of sorbitol dehydrogenase (SDH) gene and susceptibility to diabetic retinopathy. *Med Hypotheses* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Oct 3];60(4):550–1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12615520>
64. Luo S, Shi C, Wang F, Wu Z. Association between the Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Genetic Polymorphism and Diabetic Retinopathy-A Meta-Analysis Comprising 10,168 Subjects. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2016 Nov 15 [cited 2017 Oct 3];13(11). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27854313>
65. Zhou M, Zhang P, Xu X, Sun X. The Relationship Between Aldose Reductase C106T Polymorphism and Diabetic Retinopathy: An Updated Meta-Analysis. *Investig Ophthalmology Vis Sci* [Internet]. 2015 Apr 10 [cited 2017 Oct 2];56(4):2279. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25722213>

66. Petrovič MG, Peterlin B, Hawlina M, Petrovič D. Aldose reductase (AC)n gene polymorphism and susceptibility to diabetic retinopathy in Type 2 diabetes in Caucasians. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2005 Mar [cited 2017 Oct 2];19(2):70–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15745835>
67. Szaflik JP, Wysocki T, Kowalski M, Majsterek I, Borucka AI, Blasiak J, et al. An association between vascular endothelial growth factor gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* [Internet]. 2007 Nov 19 [cited 2017 Oct 3];246(1):39–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17849138>
68. Al-Rubeaan K, Siddiqui K, Saeb ATM, Nazir N, Al-Naqeb D, Al-Qasim S. ACE I/D and MTHFR C677T polymorphisms are significantly associated with type 2 diabetes in Arab ethnicity: A meta-analysis. *Gene* [Internet]. 2013;520(2):166–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2013.02.017>
69. Sudchada P, Scarpace K. Transcription factor 7-like 2 polymorphisms and diabetic retinopathy: a systematic review. *funpecrp.com.br Genet Mol Res Mol Res* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];13(133):5865–72. Available from: <https://www.geneticsmr.com/articles/transcription-factor-7like-2-polymorphisms-and-diabetic-retinopathy-a-systematic-review.pdf>
70. Abhary S, Abhary S, Burdon KP, Casson RJ, Goggin M, Petrovsky NP, et al. Association Between Erythropoietin Gene Polymorphisms and Diabetic Retinopathy. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2017 Oct 3];128(1):102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20065225>
71. Paine SK, Basu A, Mondal LK, Sen A, Choudhuri S, Chowdhury IH, et al. Association of vascular endothelial growth factor, transforming growth factor beta, and interferon gamma gene polymorphisms with proliferative diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* [Internet]. 2012 [cited 2017 Oct 3];18:2749–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23213275>
72. Gonzalez-Salinas R, Garcia-Gutierrez MC, Garcia-Aguirre G, Morales-Canton V, Velez-Montoya R, Soberon-Ventura VR, et al. Evaluation of VEGF gene polymorphisms and proliferative diabetic retinopathy in Mexican population. *Int J Ophthalmol* [Internet]. 2017 [cited 2017 Oct 3];10(1):135–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28149790>
73. Zhang Y, Xia W, Lu P, Yuan H. The Association between VDR Gene Polymorphisms and Diabetic Retinopathy Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2017 Oct 3];2016:5305282. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27891515>
74. Yigit S, Karakus N, Inanir A. Association of MTHFR gene C677T mutation with diabetic peripheral neuropathy and diabetic retinopathy. *Mol Vis* [Internet]. 2013 [cited 2017 Oct 3];19:1626–30. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23901246>

75. Sobrin L, Green T, Sim X, Jensen RA, Tai ES, Tay WT, et al. Candidate gene association study for diabetic retinopathy in persons with type 2 diabetes: the Candidate gene Association Resource (CARE). *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2011 Sep 29 [cited 2017 Oct 2];52(10):7593–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21873659>
76. Rietveld I, Ikram MK, Vingerling JR, Hofman A, Pols HAP, Lamberts SWJ, et al. An IGF-I Gene Polymorphism Modifies the Risk of Diabetic Retinopathy. *Diabetes* [Internet]. 2006 Aug 1 [cited 2017 Oct 3];55(8):2387–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16873705>
77. Yang X, Deng Y, Gu H, Ren X, Li N, Lim A, et al. Candidate gene association study for diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];20:200–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24623964>
78. Kaidonis G, Burdon KP, Gillies MC, Abhary S, Essex RW, Chang JH, et al. Common Sequence Variation in the VEGFC Gene Is Associated with Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2015 Sep [cited 2017 Oct 3];122(9):1828–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26072347>
79. Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. *Diabetes* [Internet]. 2009 Sep [cited 2017 Oct 2];58(9):2137–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19587357>
80. Pollack S, Igo RP, Jensen RA, Christiansen M, Li X, Cheng C, et al. Threshold Modeling of Duration of Diabetes and Glycemic Control. 2018;4–103.
81. Vujosevic S, Simó R. Local and Systemic Inflammatory Biomarkers of Diabetic Retinopathy: An Integrative Approach. *Investig Ophthalmology Vis Sci* [Internet]. 2017;58(6):BIO68. Available from: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?doi=10.1167/iovs.17-21769>
82. Pusparajah P, Lee L-H, Abdul Kadir K. Molecular Markers of Diabetic Retinopathy: Potential Screening Tool of the Future? *Front Physiol* [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 4];7:200. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313539>
83. Cunha-Vaz J, Ribeiro L, Lobo C. Phenotypes and biomarkers of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* [Internet]. 2014 Jul [cited 2019 Apr 4];41:90–111. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350946214000160>
84. Awata T, Inoue K, Kurihara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with

- diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2002 May [cited 2017 Oct 3];51(5):1635–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11978667>
85. Szaflik JP, Majsterek I, Kowalski M, Rusin P, Sobczuk A, Borucka AI, et al. Association between sorbitol dehydrogenase gene polymorphisms and type 2 diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* [Internet]. 2008 Apr [cited 2017 Oct 3];86(4):647–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18289528>
 86. Tong Z, Yang Z, Patel S, Chen H, Gibbs D, Yang X, et al. Promoter polymorphism of the erythropoietin gene in severe diabetic eye and kidney complications. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2008 May 13 [cited 2017 Oct 3];105(19):6998–7003. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18458324>
 87. Yang X, Deng Y, Gu H, Lim A, Altankhuyag A, Jia W, et al. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and the risk of diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* [Internet]. 2011 [cited 2017 Oct 3];17:3088–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22162628>
 88. Hosseini SM, Boright AP, Sun L, Canty AJ, Bull SB, Klein BEK, et al. The association of previously reported polymorphisms for microvascular complications in a meta-analysis of diabetic retinopathy. *Hum Genet* [Internet]. 2015 Feb [cited 2017 Oct 3];134(2):247–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25487307>
 89. Morita K, Saruwatari J, Miyagawa H, Uchiyashiki Y, Oniki K, Sakata M, et al. Association between aldehyde dehydrogenase 2 polymorphisms and the incidence of diabetic retinopathy among Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2013 Sep 13 [cited 2017 Oct 3];12:132. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24028448>
 90. Mooney SD, Krishnan VG, Evani US. Bioinformatic Tools for Identifying Disease Gene and SNP Candidates. [cited 2017 Sep 7]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3957484/pdf/nihms460716.pdf>
 91. Elvia Rodríguez-Villalobos D, Cervantes-Aguayo F, Enrique Vargas-Salado A, María Elena Ávalos-Muñoz TS, Dulce María Juárez-Becerril EM, Éctor Jaime Ramírez-Barba A. Retinopatía diabética. Incidencia y progresión a 12 años. *Cir Ciruj* [Internet]. 2005 [cited 2017 Nov 18];7373(2):79–84. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2005/cc052b.pdf>
 92. Soares-souza G, Borda V, Kehdy F, Tarazona-santos E. Admixture , Genetics and Complex Diseases in Latin Americans and US Admixture , Genetics and Complex Diseases in Latin Americans and US Hispanics. 2018;(January 2019).
 93. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo

- populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2009 May 26 [cited 2017 Nov 12];106(21):8611–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19433783>
94. Chong YH, Fan Q, Tham YC, Gan A, Tan SP, Tan G, et al. Type 2 Diabetes Genetic Variants and Risk of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* [Internet]. 2017 Mar [cited 2017 Oct 3];124(3):336–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28038984>
 95. Wang J, Chen S, Jiang F, You C, Mao C, Yu J, et al. Vitreous and plasma VEGF levels as predictive factors in the progression of proliferative diabetic retinopathy after vitrectomy. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 2];9(10):e110531. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25329921>
 96. Priščáková P, Minárik G, Repiská V. Candidate gene studies of diabetic retinopathy in human. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Oct 2];43(12):1327–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27730450>
 97. Peach C, Mignone V, Arruda M, Alcobia D, Hill S, Kilpatrick L, et al. Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Apr 23 [cited 2018 Jun 2];19(4):1264. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/4/1264>
 98. Fearnley GW, Smith GA, Abdul-zani I, Yuldasheva N, Mughal NA, Homer-vanniasinkam S, et al. VEGF-A isoforms program differential VEGFR2 signal transduction , trafficking and proteolysis. *Biol Oopen*. 2016;5:571–83.
 99. Nguyen QD, Agarwal A, Soliman MK, Sepah YJ DD. Diabetic retinopathy : variations in patient therapeutic outcomes and pharmacogenomics. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014;7:399–409.
 100. Han L, Zhang L, Xing W, Zhuo R, Lin X, Hao Y, et al. The associations between VEGF gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis of 11 case-control studies. *J Diabetes Res* [Internet]. 2014 [cited 2018 Feb 7];2014:805801. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24868559>
 101. U.S. National Library of Medicine. rs2146323 [Internet]. dbSNP. 2018. p. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2146323#publica>. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2146323#publications>
 102. Lorés-Motta L, de Jong EK, den Hollander AI. Exploring the Use of Molecular Biomarkers for Precision Medicine in Age-Related Macular Degeneration. *Mol Diagn Ther* [Internet]. 2018 Jun 26 [cited 2019 May 17];22(3):315–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29700787>
 103. 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* [Internet]. 2018 Dec 13 [cited 2019 May 17];38(6):2381–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29030794>
104. Hampton BM, Schwartz SG, Jr MAB, Jr HWF. Update on genetics and diabetic retinopathy. 2015;
 105. Zeng Y, Dai F, Yang K, Tang Y, Xu M, Zhou Y. Association between a vascular endothelial growth factor gene polymorphism (rs2146323) and diabetic retinopathy: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* [Internet]. 2015 Dec 9 [cited 2019 May 17];15(1):163. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2415/15/163>
 106. Nakanishi K, Watanabe C. Single nucleotide polymorphisms of vascular endothelial growth factor gene intron 2 are markers for early progression of diabetic retinopathy in Japanese with type 1 diabetes. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2009 Apr [cited 2019 May 17];402(1–2):171–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19263526>
 107. Zeng Y, Dai F, Yang K, Tang Y, Xu M, Zhou Y. Association between a vascular endothelial growth factor gene polymorphism (rs2146323) and diabetic retinopathy: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol* [Internet]. 2015 Nov 9 [cited 2019 May 17];15:163. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26553067>
 108. Bernstein KE, Ong FS, Blackwell W-LB, Shah KH, Giani JF, Gonzalez-Villalobos RA, et al. A modern understanding of the traditional and nontraditional biological functions of angiotensin-converting enzyme. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2013 Jan [cited 2019 Oct 6];65(1):1–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23257181>
 109. Martínez-Rodríguez N, Posadas-Romero C, Villarreal-Molina T, Vallejo M, Del-Valle-Mondragón L, Ramírez-Bello J, et al. Single nucleotide polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene are associated with essential hypertension and increased ACE enzyme levels in Mexican individuals. *PLoS One* [Internet]. 2013 [cited 2019 Oct 4];8(5):e65700. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23741507>
 110. Sousa AC, Reis RP dos, Pereira A, Borges S, Freitas AI, Guerra G, et al. Polimorfismos Genéticos Associados ao Aparecimento de Hipertensão Arterial Numa População Portuguesa. *Acta Med Port* [Internet]. 2018 Oct 31 [cited 2019 Oct 4];31(10):542. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30387422>
 111. Heidari F, Vasudevan R, Mohd Ali SZ, Ismail P, Etemad A, Pishva SR, et al. Association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene among Malay male hypertensive subjects in response to ACE inhibitors. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* [Internet]. 2015 Dec 7 [cited 2019 Oct 4];16(4):872–9. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1470320314538878>

112. Sun F, He N, Zhang K, Wu N, Zhao J, Qiu C. Association of ACE gene A2350G and I/D polymorphisms with essential hypertension in the northernmost province of China. *Clin Exp Hypertens* [Internet]. 2018 Jan 2 [cited 2019 Oct 4];40(1):32–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29172745>
113. Lee R, Wong TY, Sabanayagam C. Epidemiology of diabetic retinopathy, diabetic macular edema and related vision loss. *Eye Vis (London, England)* [Internet]. 2015 [cited 2017 Nov 12];2:17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26605370>
114. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* [Internet]. 2012 Mar [cited 2019 Jun 17];35(3):556–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22301125>
115. West SK, Munoz B, Klein R, Snyder R. Risk Factors for Type II Diabetes and Diabetic Retinopathy in a Mexican-American Population: Proyecto VER. 2002;9394(02).
116. Wang B, Wang F, Zhang Y, Zhao S-H, Zhao W-J, Yan S-L, et al. Effects of RAS inhibitors on diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2017 Oct 2];3(4):263–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25660574>
117. Gilbert RE, Kelly DJ, Cox AJ, Rumble JR, Osicka T, Panagiotopoulos S, et al. Angiotensin converting enzyme inhibition reduces retinal overexpression of vascular endothelial growth factor and hyperpermeability in experimental diabetes. 2000;1360–7.
118. U.S. National Library of Medicine. rs4295 [Internet]. db SNP. 2018. p. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4295>. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4295>
119. Luo S, Shi C, Wang F, Wu Z. Association between the Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Genetic Polymorphism and Diabetic Retinopathy-A Meta-Analysis Comprising 10,168 Subjects. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2016 [cited 2018 Feb 7];13(11). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27854313>
120. Moreno-estrada A, Gignoux CR, Fernández-lópez JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras A V, et al. The genetics of Mexico Recapitulates Native American Substructure and Affects Biomedical Traits. 2014;344(6189):1280–5.
121. Aguilar-Salinas CA, Muñoz-Hernandez LL, Cobos-Bonilla M, Ramírez-Márquez MR, Ordoñez-Sanchez ML, Mehta R, et al. The R230C variant of the ATP binding cassette protein A1 (ABCA1) gene is associated with a decreased response to glyburide therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* [Internet].

- 2013;62(5):638–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.11.006>
122. INSP. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de medio camino 2016. 2016;
 123. Prado-Serrano A, Marilu Anahí Guido-Jiménez D, Jiny Tatiana Camas-Benítez RESUMEN D. Prevalencia de retinopatía diabética en población mexicana. Octubre [Internet]. 2009 [cited 2017 Nov 12];83(5). Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexoft/rmo-2009/rmo095c.pdf>
 124. Speakman JR. Thrifty genes for obesity and the metabolic syndrome — time to call off the search? *Diabetes Vasc Dis Res* [Internet]. 2006 May 23 [cited 2019 May 31];3(1):7–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16784175>
 125. Hillier TA, Pedula KL. Complications in young adults with early-onset type 2 diabetes: losing the relative protection of youth. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Nov 1 [cited 2019 May 30];26(11):2999–3005. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578230>
 126. Hillier TA, Pedula KL. Characteristics of an adult population with newly diagnosed type 2 diabetes: the relation of obesity and age of onset. *Diabetes Care* [Internet]. 2001 Sep 1 [cited 2019 May 30];24(9):1522–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11522693>
 127. Unnikrishnan R, Anjana RM, Amutha A, Ranjani H, Jebarani S, Ali MK, et al. Younger-onset versus older-onset type 2 diabetes: Clinical profile and complications. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2017 Jun [cited 2019 Jun 1];31(6):971–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28410927>
 128. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, et al. Linkage of Type 2 Diabetes Mellitus and of Age at Onset to a Genetic Location on Chromosome 10q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet* [Internet]. 1999 Apr 1 [cited 2019 May 30];64(4):1127–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929707631784>
 129. Valor L, Propiedad DELA, Viv F, Valor L, Propiedad DELA. *Ensanut-Mc* 2016. 2016;1–9.
 130. Polack S, Yorston D, Baia RM, Alves L, Kuper H. Rapid Assessment of Avoidable Blindness and Diabetic Retinopathy in Chiapas ,. *OPHTHA* [Internet]. 2011;119(5):1033–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.11.002>
 131. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)* [Internet]. 1984 Apr [cited 2019 May 17];102(4):527–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6367725>

132. West SK, Klein R, Rodriguez J, Muñoz B, Broman AT, Sanchez R, et al. Diabetes and diabetic retinopathy in a Mexican-American population. *Diabetes Care* [Internet]. 2001;24(7):1204. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/content/24/7/1204.short>
133. Gao X, James Gauderman W, Marjoram P, Torres M, Chen YDI, Taylor KD, et al. Native American ancestry is associated with severe diabetic retinopathy in Latinos. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(9):6041–5.
134. Viazzi F, Piscitelli P, Giorda C, Ceriello A, Genovese S, Russo G, et al. Metabolic syndrome, serum uric acid and renal risk in patients with T2D. *PLoS One*. 2017;12(4):1–12.
135. Kuwata H, Okamura S, Hayashino Y, Tsujii S, Ishii H, Diabetes Distress and Care Registry at Tenri Study Group. Serum uric acid levels are associated with increased risk of newly developed diabetic retinopathy among Japanese male patients with type 2 diabetes: A prospective cohort study (diabetes distress and care registry at Tenri [DDCRT 13]). *Diabetes Metab Res Rev* [Internet]. 2017 Oct [cited 2019 Jun 1];33(7):e2905. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28444955>
136. Zhu D, Wang Y, Zou C, She X, Zheng Z. The role of uric acid in the pathogenesis of diabetic retinopathy based on Notch pathway. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2018 Sep 5 [cited 2019 Jun 1];503(2):921–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29932924>
137. Liang C-C, Lin P-C, Lee M-Y, Chen S-C, Shin S-J, Hsiao P-J, et al. Association of Serum Uric Acid Concentration with Diabetic Retinopathy and Albuminuria in Taiwanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 Aug 2 [cited 2019 Jun 1];17(8):1248. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27490538>
138. Wong MYZ, Man REK, Fenwick EK, Gupta P, Li L-J, van Dam RM, et al. Dietary intake and diabetic retinopathy: A systematic review. *PLoS One* [Internet]. 2018 [cited 2019 May 31];13(1):e0186582. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29324740>
139. Cundiff DK, Nigg CR. Diet and diabetic retinopathy: insights from the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *MedGenMed* [Internet]. 2005 Jan 6 [cited 2019 May 31];7(1):3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16369308>
140. Dow C, Mancini F, Rajaobelina K, Boutron-Ruault M-C, Balkau B, Bonnet F, et al. Diet and risk of diabetic retinopathy: a systematic review. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2018 Feb 4 [cited 2019 May 31];33(2):141–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29204902>
141. Feghhi M, Farrahi F, Abbaspour M, Takhtaeian A. Effect of adding oral calcium

dobesilate to laser photocoagulation on the macular thickness in patients with diabetic macular edema: a randomized clinical trial. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2014 Dec [cited 2019 May 31];4(4):375–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25436194>

142. Monickaraj F, McGuire P, Das A. Cathepsin D plays a role in endothelial–pericyte interactions during alteration of the blood–retinal barrier in diabetic retinopathy. *FASEB J* [Internet]. 2018 May [cited 2019 May 31];32(5):2539–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29263022>
143. Debnath S, Thameem F, Alves T, Nolen J, Al-Shahrouri H, Bansal S, et al. Diabetic nephropathy among Mexican Americans. *Clin Nephrol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2019 Jun 6];77(4):332–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22445478>

12 ANEXOS

12.1 APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN

Hospital Regional de Alta Especialidad de la
Península de Yucatán

OFICIO CEI/012/2018
Comité de Ética en Investigación

Mérida, Yucatán a 20 de febrero de 2018

Asunto: Dictamen de protocolo 2017-019

Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta
Responsable de la Unidad de Medicina Personalizada UNAM/HRAEPY
PRESENTE

Con relación al protocolo con número 2017-019, titulado "Identificación de polimorfismos genéticos asociados a retinopatía diabética en población yucateca"; el cual, usted funge como investigador principal; y enviados a este comité por vía electrónica el día 28 de noviembre de 2017; recibido los ajustes el 11 de febrero de 2018 y durante la sesión del 8 de febrero de 2018, se realizó la revisión de los siguientes documentos:

1. Datos de identificación
2. El protocolo en su versión 2
3. El consentimiento informado en su versión 2
4. Hoja de conflicto de interés
5. Instrumentos de recolección de datos (Hoja de recolección de datos)

Le informo, que al evaluar dicho protocolo como riesgo mínimo, y al cumplir con todos los requisitos establecidos, el dictamen fue:

APROBADO

Así mismo, se le hace entrega en forma impresa y por medio electrónico, del formato de consentimiento informado con fecha de autorización y de vigencia, el cual no podrá ser modificado por ningún medio.
De igual manera le informo, que **NO EXISTE**, ningún conflicto de interés por los integrantes del comité de ética para la revisión de su protocolo.
La responsabilidad del CEI incluye el seguimiento del estudio, por lo que se le recuerda el compromiso que usted como investigador hizo a este comité, en donde se ponen los mecanismos de entrega de enmienda, término o cancelación del estudio.

Atentamente


Dra. Irasema Romero Baquedano
Presidente del Comité de Ética en Investigación

C.p. Dr. José Roberto Lugo Gómez, Presidente del Comité de Investigación
C.p. Archivo

CONBIOÉTICA-31-CEI-002-20170731

Calle 7, No. 433 por 20 y 22, Fracc. Alhambra, C.P. 97130, Mérida, Yucatán
Tel. (999) 942 7600 www.hraeyucatan.salud.gob.mx

12.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio	Identificación de polimorfismos genéticos asociados a retinopatía diabética en población Yucateca
Nombre del investigador responsable	Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta
Dirección	Laboratorio de Genómica de la Diabetes, PC&TY-Facultad de Química-UNAM; Investigación-HRAEPY.
Teléfono de contacto	Teléfono: 999-688-53-04; Extensión 7620, Teléfono 999-942-76-00; Extensión: 54402.

El documento que se expone a continuación cumple con lo dispuesto por el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud. Artículos 1º., 2º., fracción VII, 3º. fracción IX, 4º., 7º., 13 apartado "A" fracciones I, IX, X, apartado "B" fracciones I y VI, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103 y demás relativos a la Ley General de Salud.

Por este medio se le hace la cordial invitación para participar en el proyecto "**Identificación de polimorfismos genéticos asociados a retinopatía diabética en yucatecos**" que será desarrollado por investigadoras de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, para buscar alternativas en el tratamiento de la pérdida de la visión en los pacientes con diabetes en el estado de Yucatán. La pérdida de visión (retinopatía diabética) en los pacientes con diabetes se genera principalmente por no tener un control en los niveles de azúcar en la sangre, sin embargo, no es lo único que la provoca. La finalidad de este estudio es conocer el número de personas afectadas y la herencia de la pérdida de visión en los pacientes con diabetes de la población de Yucatán, para lo cual mediremos sus concentraciones de azúcar (glucosa) y de grasa en sangre (colesterol, triglicéridos y "colesterol malo"), también se buscará en su sangre la herencia que pudiera relacionarse con la posibilidad de la pérdida de visión, los resultados que se obtengan de sus análisis serán de gran importancia para poder prevenir esta complicación en los pacientes con diabetes.

El objetivo del estudio es identificar factores de riesgo para la aparición y severidad de la retinopatía diabética (pérdida de visión) y principalmente identificar los genes asociados a retinopatía diabética en la población yucateca.

Para que usted acepte participar en este estudio, se le presenta este documento que se llama "Consentimiento Informado", cuyo objetivo es hacer de su conocimiento los posibles riesgos y beneficios para que usted y que esto le ayude a tomar una decisión informada y voluntaria.

El consentimiento informado le da información sobre el estudio al que se le está invitando a participar, por lo cual es de suma importancia que lo lea cuidadosamente antes de que tome la decisión, y si usted lo desea, puede comentarlo con quien desee (un amigo, un familiar de confianza, etc.). Si usted tiene preguntas y/o dudas puede hacerlas directamente a su médico tratante o al personal del estudio quienes le ayudarán a resolver cualquier duda.

Una vez que tenga toda la información sobre el estudio y los procedimientos que se llevarán a cabo y que lo haya entendido, se le pedirá que firme esta forma para poder participar en el estudio. Su decisión es voluntaria, lo que significa que usted es totalmente libre de ingresar o no en el estudio. Podrá retirar su consentimiento en cualquier momento sin tener que explicar las razones, esto no significa que tendrá una disminución en la calidad de la atención médica que se le brinde, ni afectará la relación con su médico. Si decide no participar, usted puede platicar con su médico sobre los cuidados médicos regulares. Su médico puede retirarlo o recomendarle no participar en caso de que así lo considere.

Este estudio representará una estrategia de investigación para conocer cuáles son los factores de herencia involucrados en el desarrollo de la pérdida de visión en la diabetes en población yucateca e implicará lo que se menciona a continuación:

La toma de una muestra de sangre, mediante punción venosa del brazo de un volumen de aproximadamente 15 mL para que con su sangre se hagan 3 cosas:

1. Se utilizará para extraer material genético (DNA) para el estudio de la búsqueda de genes en el protocolo "Identificación de polimorfismos genéticos asociados a retinopatía diabética en yucatecos".
2. Probablemente, en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la "pérdida de visión" en la diabetes, por ello se le solicita que autorice al investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en la pérdida de visión en la diabetes y no se realizarán otros estudios con ella.
3. Se llevarán a cabo análisis de azúcar y grasas en sangre.

Usted también puede aceptar que en dicha muestra de sangre donde se extraerá el material de herencia (DNA) se realicen otros estudios para estudiar otras enfermedades diferentes.

Si usted acepta sólo los estudios de herencia descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en el punto 2, el investigador garantiza que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más. Una vez separada la muestra no podrá ser destruida, pero no se podrá relacionar con usted.

Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de la obtención del material genético.

Procedimiento

- Si usted acepta a participar en el estudio, se llevará a cabo el siguiente procedimiento:
- Se realizará un examen físico en el que se le tomarán medidas de peso, estatura, cintura y cadera para determinar el índice de Masa Corporal (IMC) y presión arterial.
- Se someterá a un análisis de laboratorio en el cual le hará una extracción de sangre (el equivalente a 3 tubos de 5mL cada uno). Para esta toma de muestra de sangre se le pedirá que tenga un ayuno de 12 horas antes de la toma de muestra.
- Le solicitarán que responda a un cuestionario que le pedirán algunos datos personales y antecedentes de enfermedades.
- Se realizará una revisión de fondo de ojo que consiste en la aplicación de gotas de tropicamida (anticolinérgico) y fenilefrina (adrenérgico alfa) para agrandar la pupila del ojo y permitir ver la retina con una lupa y una lámpara especiales. También se tomarán fotografías de la retina con una cámara de fondo de ojo.

Riesgos

Los riesgos de la extracción de sangre incluyen molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y/o hematomas. Los riesgos de la revisión de fondo de ojo son bajos, las complicaciones más frecuentes son molestias con la luz, visión borrosa transitoria y en casos raros bloqueo pupilar con aumento de la presión intraocular.

Beneficios

Se le entregarán al participante los resultados bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina), así como el reporte del estado de la retina de sus ojos.

Confidencialidad

Usted tiene derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La información será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto es con la finalidad de proteger la integridad del estudio.

No se revelará la identidad de las personas que participen en el estudio en ningún informe o publicación que se genere a partir de este trabajo.

Entiendo que puedo decidir no participar en este estudio; si lo hago, no seré penalizado, ni perderé beneficio alguno al que tenga derecho como paciente del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán (HRAEPY).

Si usted tiene preguntas sobre este proyecto ¿A quién puede llamar?

Si usted tiene preguntas o dudas acerca de los procedimientos que se llevarán en este proyecto como la recolección de muestras, sus derechos en este proyecto o sobre el almacenamiento de sus muestras, puede llamar al Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán con la Dra. Fiona Carolina Xacur García al teléfono: 9999427600, Extensión: 54306 o a los teléfonos del Laboratorio de Genómica de la Diabetes Teléfono: 999-688-53-04; Extensión 7620; y el área de Investigación del HRAEPY Teléfono: 999-942-76-00; Extensión: 54402 con la Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta.

DECLARACIÓN FORMAL DE CONSENTIMIENTO

1. Yo _____ declaro bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
2. Se me ha entregado una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha otorgado la oportunidad de hacerle preguntas al investigador del estudio para aclarar dudas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de material genético (DNA) con un número codificado.
4. Mi participación en este estudio genético de investigación es voluntaria. Puedo decidir no ser parte o retirarme del estudio de investigación en cualquier momento sin sanciones ni pérdida de beneficios a los cuales tengo derecho. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
5. Me han informado que la evaluación física, de laboratorio clínico y el estudio genético no tiene ningún costo, y no habrá ningún gasto adicional para mí.
6. Toda la información genética generada de la muestra podrá ser depositada en bases de datos científicas de libre acceso (públicas) en internet.
7. Una vez que la muestra haya sido estudiada, no podré retirar la información de mi muestra de las bases de datos científicas. He leído o escuchado toda la información, he hecho todas las preguntas que he tenido, y todas mis preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. soy consciente que dar una muestra es mi decisión.

Medite su elección, elija uno de los siguientes puntos y firme si usted está de acuerdo.

Punto 1. YO DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético referente a la “pérdida de visión” en la diabetes en mi muestra de material genético (DNA).

Punto 2. YO DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra material genético (DNA), con desvinculación de la identidad. esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la “pérdida de visión” en la diabetes.

Punto 3. YO DOY mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de material genético (DNA) desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades. Acepto que se me realice la toma de muestra de sangre periférica.

Lugar y fecha

Nombre del participante

Firma del participante

Dirección

del

participante:

-

¿Se le otorgó copia al participante? SI ____ NO ____

Firma del Investigador _____

Testigo 1

Fecha: _____

Nombre:

Firma:

Domicilio:

Relación con el Participante:

Testigo 2

Fecha: _____

Nombre:

Firma:

Domicilio:

Relación con el Participante:

Fecha: _____

Nombre de la persona que explica el consentimiento

Firma de la persona que explica el

consentimiento

12.3 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS A RETINOPATIA DIABETICA EN POBLACION
YUCATECA

INSTRUMENTO DE RECOLECCION

DATOS PERSONALES									
FECHA		EXPEDIENTE		FOLIO					
NOMBRE(S)	APELLIDO PATERNO			APELLIDO MATERNO					
FECHA DE NACIMIENTO (DD/MM/AAAA)								EDAD	
GÉNERO	HOMBRE	MUJER	NO IDENTIFICADO						
OCUPACIÓN	HOGAR	OBRERO	EMPLEADO	PROFESIONISTA	CAMPESINO	PESCADOR	ARTESANO		
ESTADO CIVIL	SOLTERO		CASADO						
ESCOLARIDAD	NINGUNA	PRIMARIA	SECUNDARIA	PREPARATORIA	LICENCIATURA	POSGRADO			
DÓNDE NACIÓ (CÓDIGO DE MUNICIPIO)					DÓNDE VIVE (CÓDIGO DE MUNICIPIO)				
DIRECCION									
				HABLA MAYA	SI	NO			
TELÉFONO CON LADA									
SIGNOS VITALES Y DATOS ANTROPOMÉTRICOS									
PESO(KG)	TALLA(CM)	FC	FR	TA					
CINTURA (CM)	CADERA (CM)	DEXTROTIX							
ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS/NO PATOLÓGICOS/GINECOOBSTÉTRICOS									
FUMA	SI	NO	ÍNDICE TABÁQUICO			OBS			
ALCOHOL	SI	NO	LEVE	MODERADO	INTENSO	OBS			
DROGAS	SI	NO	MARIGUANA	COCAINA	INHALANTES	OTRO			
ALERGIAS	SI	NO	CUÁLES			OBS			
DIABETES	SI	NO	<5 AÑOS	5-10 AÑOS	10-15 AÑOS	>15 AÑOS	#		
HAS	SI	NO							
TIROIDES	HIPER	HIPO							
CORAZON	ANGINA	INFARTO	INSUFICIENCIA	ARRITMIA	VALVULOPATIA	OTRA			
PULMONES	EPOC	ASMA	OTRO						
HIGADO	CIRROSIS	HÍGADO GRASO	HEPATITIS	COLELITIASIS					
EVC	SI	NO							
NEFROPATIA	IRC	LITIASIS							
DIÁLISIS	SI	NO							
GI	SI	NO							
CIRCULACION	IVP	IAP							
PIE DIABÉTICO	SI	NO							
AMPUTACIONES	SI	NO							
NEUROL	SI	NO	CUAL						
COLESTEROL	SI	NO							
TRIGLICERIDOS	SI	NO							
INMUNOLOGICAS	AR	LES	OTRO	CUAL					
OTRAS PATOLOGÍAS									
GESTA	PARA			ABORTOS			FUR		
ESTÁ EMBARAZADA	SI	NO							
CIRUGÍAS PREVIAS									

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS A RETINOPATIA DIABETICA EN POBLACION YUCATECA

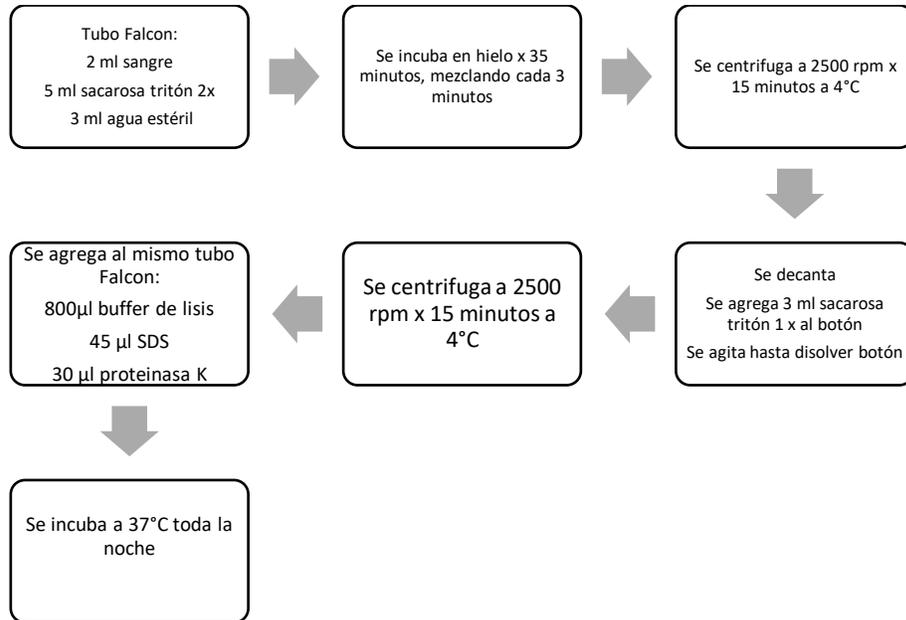
ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES							
ENFERMEDAD	MADRE	PADRE	HERMANOS	HERMANAS	HIJOS	ABUELOS PAT	ABUELOS M
DM							
HAS							
OBESIDAD/SP							
COLESTEROL							
TRIGLICERIDOS							
MEDICAMENTOS							
NOMBRE DEL MEDICAMENTO	DOSIS			HORARIO DE TOMA		DESDE CUANDO LO TOMA	
SUPLEMENTOS O REMEDIOS NATURALES							
REACCIONES ADVERSAS							
¿SE HA SENTIDO MAL CUANDO TOMA SUS MEDICAMENTOS?						SI	NO
¿CUÁL MEDICAMENTO?							
¿QUÉ HA SENTIDO?							
¿CON QUÉ FRECUENCIA?							
ANTECEDENTES OFTALMOLÓGICOS							
ENFERMEDAD	SI	NO	GOTAS		LASER	CIRUGÍA	
RD	SI	NO					
EM	SI	NO					
CATARATA	SI	NO					
GLAUCOMA	SI	NO					
LENTES	SI	NO	MIOPIA	ASTIGMATISMO	HIPERMETROPIA		
OTRAS ENFERMEDADES DE LOS OJOS							
¿USA OTRAS GOTAS EN LOS OJOS?				SI	NO		
¿Cuáles?							
EXPLORACIÓN OFTALMOLÓGICA							
CATARATA	SI	NO					
RETINOPATÍA	0= no	1=leve	2=moderada	3=severa	4=neovasos	5=HV	6=DR
EDEMA MACULAR	SI	NO					
OBSERVACIONES							

12.5 FRECUENCIA SEMANAL DE ALIMENTOS

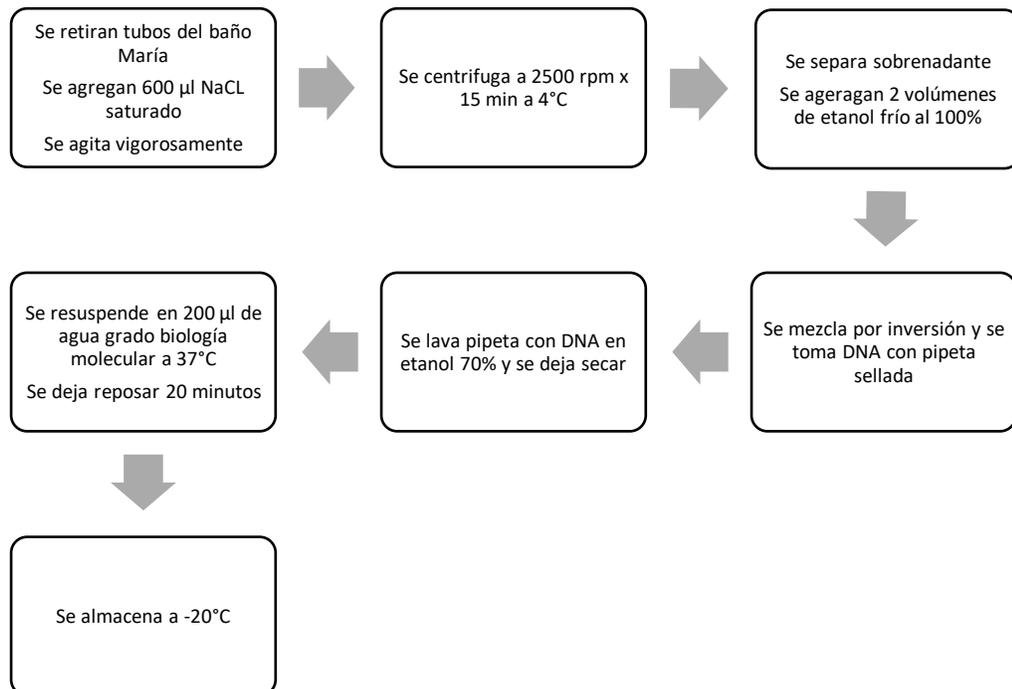
Frecuencia de consumo de alimentos. De los 7 días a la semana, ¿cuántas veces usted consume...? Se reporta ___/7					
Cereales con fibra	Cereales sin fibra	Leguminosas	Carnes	Pescado	Huevo
Leche, queso, yogurt	Frutas	Verduras	Aceite	Manteca	Aguacate
Refrescos embotellados	Bebidas light	Edulcorantes	Azúcar S/G	Azúcar C/G	

12.6 EXTRACCION DE DNA SALTING-OUT (TÉCNICA DE MILLER MODIFICADA)

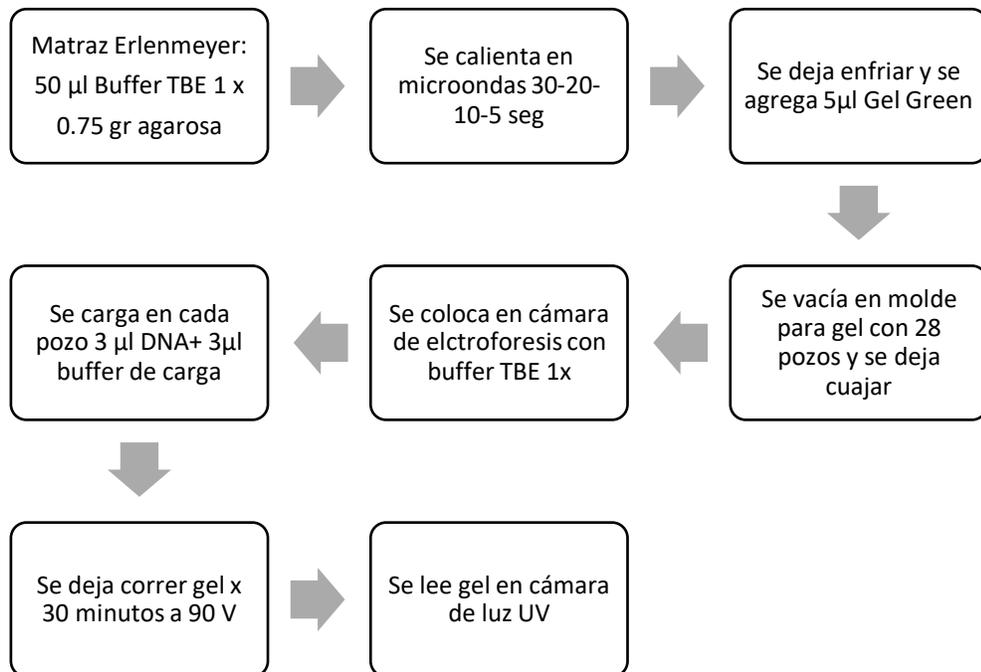
DÍA 1



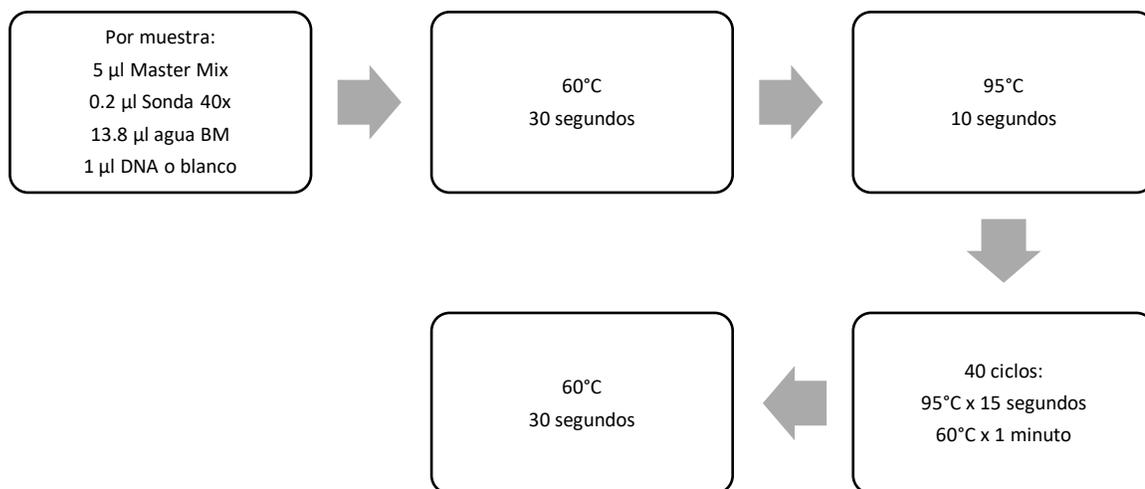
DÍA 2



12.7 VERIFICACIÓN DE INTEGRIDAD EN GEL DE AGAROSA



12.8 GENOTIPIFICACIÓN: REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA



VEGF Sonda BIASYS TaqMan SNP Assays MTO, Human SM 10 SNP ID:rs2146323, assay ID:C_1647372_10 300RX Mca. Applied. Part number 4351379.

ECA Sonda BIASYS TaqMan SNP Assays MTO, Human SM 10 SNP ID: rs4295, assay: C_589777_1_300RX Mca. Applied. Part number 4351379.

Alelo 1: VIC/MGB-NFQ

Alelo 2: FAM/MGB-NFQ

Volumen 188 µl

Formulación 40x

Número de reacciones de 5 µl: 1,500

12.9 REACTIVOS

CLORURO DE SODIO SATURADO (1 L)

Disolver 350 gramos de cloruro de sodio en 1 litro de agua destilada y solubilizar lo más posible.

Almacenar a temperatura ambiente.

Permite precipitar DNA.

BUFFER DE LISIS NUCLEAR (500 ml)

Mezclar 1.21 gramos de Tris base + 23.4 gramos de cloruro de sodio + 0.75 gramos de EDTA sódico.

Aforar con agua destilada y esterilizar. Almacenar a temperatura ambiente.

Permite lisar los núcleos de los leucocitos para liberar DNA.

SACAROSA TRITÓN 2X (1 L)

Mezclar 219 gramos de sacarosa + 2.42 gramos de Tris Base + 2.03 gramos de cloruro de magnesio + 10 ml de tritón 100x.

Aforar con agua destilada. Filtrar y almacenar a 4°C.

Detergente que rompe paredes celulares. Permite lisar células sanguíneas.

BUFFER TBE 5X (500 ml)

Mezclar 27 gramos de Tris base + 13.75 gramos de ácido bórico + 10 ml de EDTA 0.5 M pH 8.0

Aforar con agua destilada y filtrar. Almacenar a temperatura ambiente.

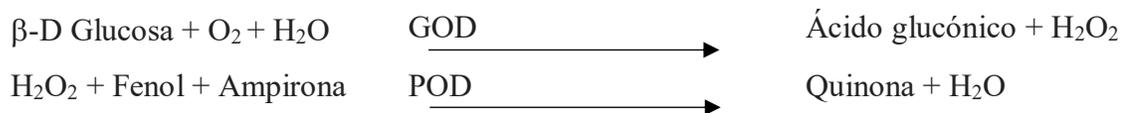
BUFFER DE CARGA PARA DNA

Disolver 25 mg de azul bromofenol 0.25% + 25 mg cianol-xileno 0.25% + 1.5 g ficol 400 15% en 10 ml de agua destilada

12.10 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

Glucosa

Para su determinación, la glucosa es oxidada a ácido glucónico en presencia de la enzima glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) producido en esta reacción, se detecta mediante un aceptor cromo génico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD):



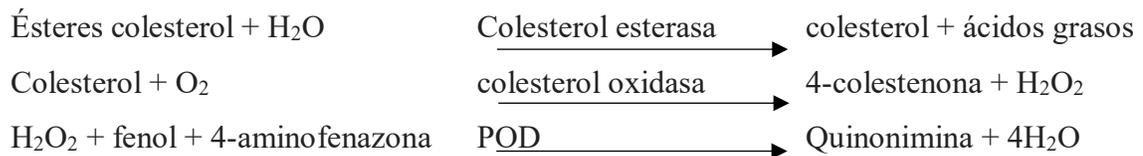
Condiciones del ensayo: 505nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: Suero o plasma 60-110mg/dL (3.33-6.10 mmol/L)

Colesterol Total

La determinación de colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias, el aumento del nivel del colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular

Fundamento: El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la siguiente reacción



Condiciones del ensayo: 505nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: Suero <200mg/dL

Colesterol HDL

Las partículas de HDL son lipoproteínas que transportan el colesterol a las células. Un nivel bajo de HDL es considerado un factor de riesgo cardiovascular y de enfermedades de las arterias coronarias

Fundamento: El método se basa en las propiedades de un detergente que solubiliza solo la fracción HDL de forma que el HDL-c se libera reaccionando con el colesterol esterasa, la colesterol oxidasa y los cromógenos.

Condiciones del ensayo: 600 a 700nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

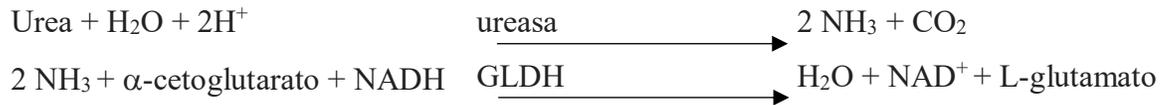
Valores de referencia: Suero en hombres > 50mg/dL y mujeres > 60mg/dL

Urea

Es excretada del organismo por los riñones por lo que su determinación es importante para el diagnóstico de algunas enfermedades renales y metabólicas

Fundamento: Para su determinación la ureasa cataliza la hidrólisis de la urea presente en la muestra, en amoníaco (NH₃) y anhídrido carbónico (CO₂). El amoníaco formado se incorpora al α-cetoglutarato por acción del glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a

NAD. La disminución de la concentración de NAD⁺ en el medio es proporcional a la concentración de la muestra a analizar



Condiciones del ensayo: 340nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: suero 15-45mg/dL, orina 20-35gr/24hrs

Creatinina

El ensayo está basado en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino produciendo un complejo rojizo descrito por Jaffé. El intervalo de tiempo elegido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina de la muestra a analizar

Condiciones del ensayo: 492nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: suero o plasma en hombres 0.7-1.4mg/dL y mujeres 0.6-1.1mg/dL

Ácido úrico

El ácido úrico proviene del metabolismo del nitrógeno por degradación de las purinas y es tóxico en el organismo, por lo cual se elimina principalmente en orina.

Fundamento: el ácido úrico es oxidado por la uricasa produciendo alantoína y peróxido de hidrógeno (2 H₂O₂). Posteriormente, en presencia de la peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo.



Condiciones del ensayo: 520nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: suero o plasma en hombres 3.6-7.7mg/dL y mujeres 2.5-6.8mg/dL

Alanina aminotransferasa (ALT)

La ALT es una enzima intracelular que se encuentra principalmente en el hígado, se encuentra elevado en enfermedades hepáticas

Fundamento: La ALT cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α-cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:





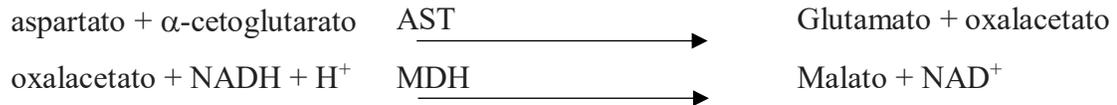
Condiciones del ensayo: 340nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: suero en hombres 40U/L y mujeres 32U/L

Aspartato aminotransferasa (AST)

ES una enzima intracelular se encuentra en niveles altos en el músculo del corazón, las células del hígado y en menor cantidad en otros tejidos, un nivel elevado de AST no es específico de enfermedad hepática, se emplea con otras enzimas como ALT.

Fundamento: La AST cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH



Condiciones del ensayo: 340nm longitud de onda, cubeta 1cm y temperatura 37°C

Valores de referencia: suero en hombres 38U/L y mujeres 31U/L

Hemoglobina glicada

Se mide la corriente generada por los electrones, producto de la escisión del peróxido de hidrógeno durante la oxidación de la fructosil valina por la fructosil aminoácido oxidasa, la cual es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina glicada.