



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

**FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA
LUZ I.A.P.**

**POLIMORFISMO C(-106)T DEL GEN AKR1B1 EN PACIENTES CON DIABETES
MELLITUS TIPO 2 Y CATARATA**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGÍA**

PRESENTA:

DRA. LILIANA CRISTAL SALINAS CERRILLO

DIRECTOR DE TESIS

DRA. MC. CLAUDIA PALACIO PASTRANA

ASESORES

DR. HÉCTOR JAVIER PÉREZ CANO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA
PROFESOR TITULAR ANTE LA UNAM

DR. OSCAR BACA LOZADA
PROFESOR ADJUNTO

DRA. ADRIANA SAUCEDO CASTILLO
PROFESOR ADJUNTO / JEFE DE ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN

DR. JAIME LOZANO ALCAZAR
DIRECTOR MÉDICO

DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS
SUBJEFE DE ENSEÑANZA

DRA. CLAUDIA PALACIO PASTRANA
ASESOR DE TESIS

DR. HÉCTOR JAVIER PÉREZ CANO
ASESOR DE TESIS

Índice

Presentación	4
1. Introducción	5
2. Protocolo de Investigación	
2.1. Justificación.....	12
2.2. Planteamiento del problema.....	12
2.3. Pregunta de Investigación.....	12
2.4. Hipótesis.....	13
2.5. Objetivos.....	13
3. Metodología	
3.1. Criterios de selección.....	14
3.2. Procedimientos.....	15
3.3. Análisis estadístico.....	16
3.4. Tamaño de la muestra.....	17
4. Resultados	18
5. Discusión	21
6. Conclusión	25
Apéndices	
1. Aspectos éticos.....	26
2. Aspectos de bioseguridad.....	26
3. Consentimiento informado.....	27
Bibliografía	30

Presentación

Título. Polimorfismo del gen AKR1B1 en pacientes con diabetes mellitu tipo 2 y catarata.

Investigadores.

Investigador Responsable: Dra. Lilibiana Cristal Salinas Cerrillo

Asesor de Tesis:

Dra. MC. Claudia Palacio Pastrana.

Maestra en Ciencias, Médico Cirujano Oftalmólogo, Jefa del Departamento de Alta Especialidad Microcirugía de Segmento Anterior. Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz

Asesores:

Dr. Héctor Javier Pérez Cano

Doctor en Ciencias, Centro de investigación. Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz.

Fecha de inicio y finalización de Investigación.

Inicio: Marzo 2017

Finalización: Enero 2019

Correspondencia.

Departamento de Microcirugía de Segmento Anterior.

Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P.

Ezequiel Montes 135 Colonia Tabacalera, Cuauhtémoc, Ciudad de México.

Introducción

En el mundo existen aproximadamente 285 millones de personas con discapacidad visual, de las cuales 39 millones son ciegas y 246 millones presentan baja visión. En México, según la ENADID 2014 (Encuesta Nacional de Dinámica Demográfica), el 6% de la población padece de alguna discapacidad; de éstas, la discapacidad visual representa el 58.4% (1).

Hasta el día de hoy la catarata representa una causa importante de discapacidad visual, llegando a ser hasta el 33% a nivel mundial, siendo superada solamente por defectos refractivos no corregidos. (2)

Entre los principales factores de riesgo para el desarrollo de la catarata en la población general, se encuentran la edad avanzada, el tabaquismo, la exposición a la luz ultravioleta, la presencia de enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus tipo 2, uso de medicamentos (esteroides), desnutrición, toxicidad por sustancias (cobre y zinc), y recientemente se ha encontrado la asociación con patologías con afección de la glándula lagrimal (3).

La catarata asociada a diabetes mellitus es una de las complicaciones más comunes en este grupo de pacientes. De todas las cirugías de catarata aproximadamente el 20% se realizan en pacientes diabéticos, y se ha encontrado que, el padecer diabetes, aumenta el riesgo de catarata de 2 a 5 en comparación a población sana (60% vs 12%) (1,3)

En un metaanálisis realizado en el 2014, donde se revisaron 5 estudios observacionales donde se estudiaba la relación entre la presencia de catarata en

pacientes diabéticos, se encontró que la incidencia de catarata en este grupo de pacientes llega a ser de hasta 3,31 por cada 1000 persona-año, en un seguimiento a 3 años (4, 5, 6)

Desde 1980 la incidencia de diabetes ha aumentado de manera alarmante en México, pasando de ser la novena a ser la tercera causa de mortalidad en el país; en total llega a causar hasta el 13.7% de las muertes en 1 año. Así como el número de muertes por diabetes aumenta, sus complicaciones también lo hacen, siendo de las más costosas las complicaciones oftalmológicas. En un estudio realizado en México en el 2013, se revisaron y analizaron diversos registros nacionales de salud (INEGI, Estudio de Diabetes de la Ciudad de México, Registro Nacional de Enfermedades Crónicas 1994, Registro Nacional de Salud II, Registro Nacional de Salud 2000, y ENSANUT 2006 y 2012) calculando que los costos generados por retinopatía diabética al año son aproximadamente 10, 323, 421.00 USD al año, mientras que los generados por catarata son de 3.4 billones al año (7).

Según la última encuesta nacional de salud, actualmente el 9.4% de la población mexicana es diabética, por lo cual resulta relevante el estudio de los factores que se encuentren asociados en el desarrollo de catarata en este tipo de pacientes (5, 8).

Entre los principales factores de riesgo asociados en los pacientes diabéticos que presentan catarata, se encuentra el grado de hiperglicemia, el nivel de hemoglobina glucosilada, la presencia o no de retinopatía diabética, y el tiempo de evolución y edad al diagnóstico de la diabetes; se ha descrito que los pacientes

menores de 40 años al diagnóstico de esta enfermedad presentan un mayor riesgo para el desarrollo de catarata de hasta 3 ó 4 veces en comparación con los pacientes mayores de 65 años al momento del diagnóstico. Se ha descrito también que los pacientes con diabetes de 5 años de evolución presentan mayor porcentaje de catarata en comparación con los pacientes con un menor tiempo de evolución (64% vs. 10.7%), sin embargo, los años de diabetes y el grado de opacidad no están relacionados (8, 9, 10)

Los pacientes diabéticos presentan diversas morfologías de catarata, se ha descrito que la presentación más común es la nuclear (46.6%), seguido de la mixta (26.6%), cortical (15.2%) y subcapsulares anterior y/o posterior (14.2%). La catarata de tipo nuclear, se considera la variante que conlleva mayor incapacidad, ya que se asocia a baja visual severa (11, 12).

Existen también situaciones especiales a considerar en los pacientes diabéticos que son sometidos a cirugía de catarata, entre ellas, los cambios que se pueden presentar en el segmento anterior del ojo como fragilidad epitelial, reducción en la sensibilidad corneal, alteraciones endoteliales y alteraciones en los mecanismos de reparación corneales, así como también pobre dilatación del iris y pérdida de midriasis, secundario a neuropatía diabética y acúmulo de glucógeno en el epitelio pigmentario del iris; mientras que en el segmento posterior de ojo, se puede observar, posterior a la cirugía de catarata, edema macular quístico (síndrome de Irvine-Gass), o empeoramiento de retinopatía diabética (13).

Las indicaciones para el retiro de la catarata en pacientes con diagnóstico de diabetes, además de la mala visión incluyen la mala visualización del fondo de ojo,

o pacientes mayores de 55-60 años que serán sometidos a cirugía de retina y que en pocos años desarrollarán un grado significativo de catarata.

Son diversos mecanismos que explican como la hiperglucemia crónica contribuye al desarrollo de complicaciones tardías en pacientes diabéticos, entre ellos 4 principales: la vía de los polioles, la formación de productos avanzados de la glucosilación (glucosilación no enzimática de proteínas secundario a niveles elevados de glucosa en el humor acuoso), la activación de la protein cinasa C y el aumento en el estrés oxidativo (10, 11, 13, 14)

Desde 1959 se demostró que no todas las vías metabólicas relacionadas con la glucosa se encuentran disminuidas ante un déficit de insulina, y desde 1993, se describió la relación entre la hiperglucemia crónica y la activación de la vía de los polioles, también ya ha estudiado el rol que tiene la enzima aldosa reductasa en el desarrollo de complicaciones macro y microvasculares en pacientes diabéticos encontrándose una fuerte asociación entre ellas (15, 16)

La vía de los polioles o el sorbitol ocurre en los tejidos que no requieren insulina para el transporte de glucosa (riñón, tejido nervioso, cristalino, epitelio corneal, tejido vascular, etc.); es una cascada de reacciones químicas en la cual se obtiene fructosa a partir de glucosa, pasando por el sorbitol, jugando un papel decisivo en este proceso la enzima aldosa reductasa (12, 17).

Bajo condiciones glicémicas normales (3.8-6.1mmol/L), la glucosa celular es predominantemente fosforilada en glucosa 6-fosfato por la hexocinasa para entrar posteriormene a la vía glucolítica, entrando de manera normal solo el 3% de la

glucosa total a la vía de los polioles y el sorbitol. Ante condiciones de hiperglucemia ($>7\text{mmol/L}$), existe una activación de esta vía, entrando a ella más del 30% de la glucosa (18).

La aldosa reductasa es una enzima intracitoplasmática, la cual no se encuentra uniformemente distribuida en los diferentes tipos celulares en los diversos órganos. Es la primera enzima, y enzima limitante, que cataliza la reducción irreversible de glucosa a sorbitol en la vía de los polioles usando nicotinamida adenin dinucleótido fosfato (NADPH) como cofactor, el cual es un importante factor antioxidante, ya que funciona como cofactor para la producción de enzimas antioxidantes (19, 20).

Existen algunos tejidos en los cuales el sorbitol es oxidado a fructosa, por medio de la deshidrogenasa de sorbitol, sin embargo, la acción de esta última enzima es mucho más lenta que la de la aldosa reductasa, lo cual conlleva a acúmulo progresivo de sorbitol, que a su vez produce un incremento en la presión osmótica, cambios en la permeabilidad de membranas, fuga de glutatión, inositol y generación de radicales libres. Cuando los tejidos se encuentran bajo un estado de hiperglucemia constante, el aumento de sorbitol en ellos lleva a una depleción de NADPH, favoreciéndose así el daño por estrés oxidativo (21).

En los humanos, el gen de la aldosa reductasa (AKR1B1) se localiza en el cromosoma 7q35, y consiste en 10 exones y 9 intrones. Este gen codifica a la superfamilia de aldo/ceto reductasas, la cual consiste en más de 40 enzimas y

proteínas, las cuales catalizan la reducción de varios aldehídos (entre ellos la forma aldehídica de la glucosa) (11, 13, 21, 22)

Existen estudios desde el 2004, en donde se ha buscado encontrar alguna alteración en el gen de la aldosa reductasa y su relación con el desarrollo de las complicaciones que presentan los pacientes diabéticos, siendo entre los más estudiados la nefropatía diabética y neuropatía diabética. Recientemente ha resultado de interés la búsqueda de relación entre el gen de la aldosa reductasa y las complicaciones oftalmológicas que padecen los pacientes diabéticos (23).

Un polimorfismo se define como la existencia de múltiples alelos para un genotipo dentro de una población, que se presenta en más del 1% de la misma. La mayoría de los polimorfismos son “silentes” (sin repercusión o cambios funcionales), pero también pueden alterar la función o regulación de diversos genes o alterar la función del producto de los genes en que se presentan. La forma más común de polimorfismos son los de nucleótido único (SNP's), llegando a representar hasta el 3-5% del total del ADN. Los SNP's se pueden presentar en regiones codificantes o no codificantes del ADN, y, aunque muchos no tienen efecto en la función celular, se cree que resultan predisponentes para el desarrollo de enfermedades o respuesta a medicamentos (24).

Se han descrito diversos polimorfismos presentes en el gen de la aldosa reductasa, entre ellos diversos SNP's, polimorfismos microsatélite y repeticiones intrónicas de dinucleótidos (25).

El polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (AKR1B1), es un tipo de polimorfismo SNP, que, al estar presente, condiciona a una sobreexpresión de esta enzima, llevando a un acúmulo excesivo intracelular de sorbitol y

favoreciendo así el desarrollo de esta complicación. En años recientes se ha estudiado ampliamente su relación con la presencia de retinopatía diabética y se han correlacionado los niveles de aldosa reductasa sérica con la prevalencia de este tipo de complicaciones (13, 26).

Hasta el día de hoy son pocas las investigaciones en donde se estudia la relación entre la presencia o ausencia de este polimorfismo y el desarrollo de catarata en pacientes con diagnóstico de diabetes. Snow y colaboradores llevaron a cabo un estudio en el 2015, en donde intentaron determinar la relación entre el polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa y la progresión en la formación de catarata en ratones transgénicos con y sin diabetes, llegando a las siguientes conclusiones: en ratones diabéticos con presencia del polimorfismo C(-106)T y presencia de diabetes, la sobreexpresión de la aldosa reductasa lleva a aumento del sorbitol, causa formación de vacuolas en cristalino, lleva a la depleción de cinasas extracelulares (ERK) y activa las Jun N-terminal (JNK) que activan el estrés y participan en la apoptosis, sin embargo lo interesante de sus resultados es que en los ratones diabéticos, sin la presencia polimorfismo C(-106)T, la aldosa reductasa no se encuentra sobreexpresada (27, 28, 29)

Cada año el número de personas con diabetes aumenta, y de la misma manera las complicaciones secundarias a esta enfermedad; sin embargo, no todos los pacientes, independientemente de su control metabólico, ya sea adecuado o inadecuado, presentan catarata. Por esta razón resulta relevante conocer los factores genéticos asociados al desarrollo de catarata (30).

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

JUSTIFICACIÓN

El determinar si existe asociación entre la presencia del polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (AKR1B1) y la presencia de catarata en pacientes con diabetes ayudará a establecer si existe una predisposición genética en los pacientes diabéticos para el desarrollo de esta complicación.

Hasta el momento no se cuenta con ningún protocolo de investigación llevado a cabo en humanos en donde se determine la asociación ente el polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (AKR1B1) y la presencia de catarata en pacientes con diagnóstico de diabetes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La fisiopatología de la catarata diabetica es multifactorial, algunas hipótesis describen que se debe a alteraciones del metabolismo del sorbitol a nivel de la regulación de la aldosa reductasa, sin embargo, no se ha determinado una alteración genética involucrada en esta regulación.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El polimorfismo C(-106)T en el gen de la aldosa reductasa (AKR1B1) está asociado con la presencia de catarata en pacientes diabéticos?

HIPÓTESIS

El polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (ARK1B1) está asociado con la presencia de catarata en pacientes diabéticos.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Determinar la asociación del polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (ARK1B1) y el desarrollo de catarata en pacientes con diagnóstico de diabetes.

Objetivo secundario:

- Determinar el polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (ARK1B1) en pacientes diabéticos con desarrollo de catarata.
- Determinar el polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (ARK1B1) en un grupo control.
- Comparar los resultados del polimorfismo C(-106)T del gen de la aldosa reductasa (ARK1B1) entre ambos grupos.

METODOLOGÍA

Métodos

Se trata de un estudio descriptivo, comparativo, transversal y prospectivo, donde se seleccionaron pacientes con diagnóstico de diabetes y presencia de catarata y sujetos sanos sin presencia de catarata en la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P. Se consideraron los siguientes criterios:

Criterios de Inclusión

1. Pacientes mayores de 18 años con firma de consentimiento informado.
2. Pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.
3. Pacientes con diagnóstico de catarata.
4. Sujetos sanos.
5. Sujetos sin diagnóstico de catarata.

Criterios de Exclusión

1. Pacientes con diagnóstico de retinopatía diabética en base al ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*).
2. Pacientes con retinopatía diabética modificada por láser.

Criterios de Eliminación

1. Pacientes que no desearan participar en el estudio.
2. Pacientes que no aceptan firmar el consentimiento informado.
3. Muestras con problemas en su procesamiento.

PROCEDIMIENTOS

1. Valoración oftalmológica.

- a. Se realizó historia clínica completa de los pacientes.
- b. Se realizó exploración física oftalmológica completa de acuerdo a los estándares de la institución, incluyendo medición de agudeza visual y capacidad visual, tonometría por método de aplanación, valoración de párpados y anexos oculares, superficie ocular, segmento anterior (clasificación de catarata mediante el sistema LOCS III) y posterior del ojo (determinación de presencia o ausencia de retinopatía diabética en base al ETDRS).

2. Toma de muestra de sangre periférica.

- a. Se tomó una muestra de sangre por personal especializado de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P. (área de enfermería o Centro de Investigación Biomédica).
- b. Se almacenó la muestra en un tubo usando como anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

3. Extracción de ácido desoxirribonucleico (DNA)

- a. Se utilizó el kit QIAamp mini kit® (Qiagen).
- b. A 200 µL de la muestra se le adicionó 250µL de la solución de lisis CLS, las muestras fueron incubadas a 56°C/60min, en presencia de 30 µL proteinasa K (1mg/mL) y se agitó en vórtex cada 10min.

- c. Se adicionó 100 µL de la solución de precipitación para incubar en refrigeración/5 min, las muestras fueron centrifugadas nuevamente y se decantaron en un nuevo tubo Eppendorf para hacer los lavados con 300 µL de isopropanol, se homogenizó invirtiéndolos 50 veces de manera suave, con una tercera centrifugación por 5 minutos se decantó el sobrenadante y se precipitó con 300 µL etanol al 70%.
- d. Las muestras se dejaron concentrar a 35°C/12hrs donde finalmente se agregó 100 µL de solución de hidratación.
- e. El material genético fue almacenado a -20°C hasta su estudio.

4. Amplificación del gen de la aldosa reductasa (AKR1B1) y detección del polimorfismo -106 C>T .

- a. Se realizó la amplificación del gen AKR1B1 mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus sigls en inglés), utilizando oligonucleótidos diseñados para la región de los SNPs (polimorfismos de nucleótido único) a estudiar.
- b. Se realizó la secuenciación directa utilizando la técnica de secuenciación por terminadores fluorescentes (BigDye) para determinar la presencia o ausencia del polimorfismo.

5. Análisis de resultados.

- a. Se realizó una base de datos en el programa Microsoft Excel para Windows.

- b. Se determinaron los aspectos demográficos de los pacientes, incluyendo sexo, edad, presencia de diabetes mellitus tipo 2, tiempo de evolución de diabetes mellitus tipo 2, cifra de último control glucémico y medicamentos utilizados para control. Además se determinó la presencia de otras comorbilidades, como hipertensión arterial. Comorbilidades oculares como glaucoma, ojo seco, degeneración macular relacionada con la edad, entre otros. También se describió el grado de catarata (en los casos de los pacientes que la presentaban) y se documentó la ausencia de retinopatía diabética.
- c. Las frecuencias alélicas y genotípicas obtenidas de los pacientes fueron comparadas con las frecuencia de los controles, obteniendo la relación estadística que existe entre ellos, utilizando la prueba exacta de Fisher, con el software GraphPad Prism V.6, a un nivel de significancia menor a 0.05, así mismo se determinó la razón de momios.

6. Tamaño de Muestra

- a. Se realizó una muestra por conveniencia en ambos grupos de estudio.

RESULTADOS

Se reunieron 2 grupos de estudio, el primero fue conformado con pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 y catarata (pacientes) y el segundo con sujetos sanos sin catarata (controles).

Dentro del grupo de pacientes se reclutaron 53 pacientes, con un tiempo promedio de evolución de diabetes de 12.8 años edad promedio de 66.1 años, y una relación entre hombres y mujeres de 36:17.

Dentro del grupo de controles, se reclutaron 30 sujetos sanos, con un promedio de edad de 67.2, y una relación entre hombres y mujeres de 18:12. (Tabla 2)

Se determinó la frecuencia alélica y genotípica entre pacientes y controles y se compararon ambos grupos evaluando también la razón de momios. (Tabla 3) (Gráfica 1 y 2)

Pacientes con DM2 y catarata (n=53)

DM2	12.8 años (5-31)
Edad	66.1 años (36-89)
Género	F:17 M:36

Tabla 1. Características del grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y catarata.

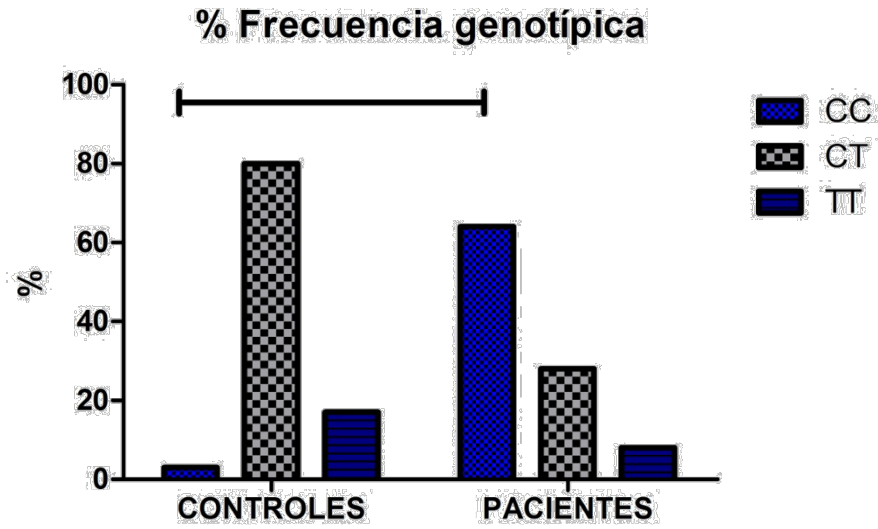
Sujetos sanos sin catarata (n=30)

DM2	-
Edad	67.2 años (50-89)
Género	F:12 M:18

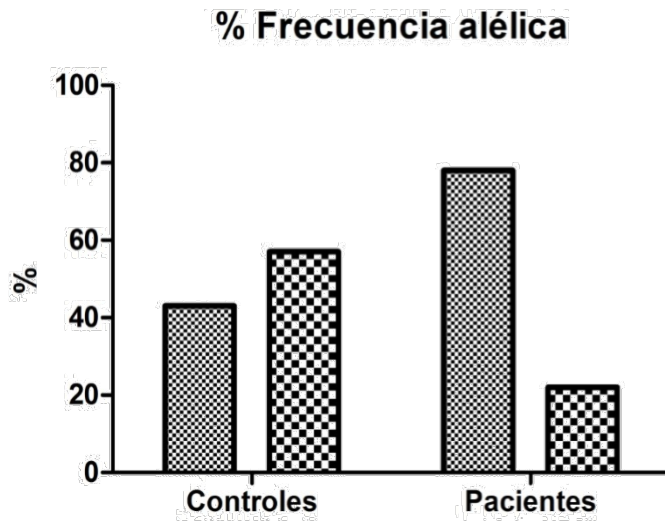
Tabla 2. Características del grupo de sujetos sanos sin catarata.

SNP	Controles (n=%)	Catarata (n=%)	Valor P*	OR (95% IC)
106C>T				
CC	1 (3)	34 (64)	<0.0001	54.4
CT	24 (80)	15 (28)	<0.0001	42.5
TT	5 (17)	4 (8)		
Total	30	53		
C	26(43)	83(78)	0.04	4.7
T	34(57)	23(22)		

Tabla 3. Frecuencias alélicas y genotípicas de controles y pacientes en AKR1B1 (-106 C>T).



Gráfica 1. Frecuencia genotípica de controles y pacientes en AKR1B1 C(-106)T.



Gráfica 2. Frecuencia alélica de controles y pacientes en AKR1B1 C(-106)T.

DISCUSIÓN

Con el paso de los años, se ha vuelto claro, que los factores genéticos tienen un papel vital para el desarrollo de las complicaciones que presentan los pacientes diabéticos y a pesar de que hasta la fecha no todos estos factores están bien comprendidos, en estudios recientes se ha implicado al gen de la aldosa reductasa como blanco para diversas variaciones genéticas que, al encontrarse presentes, resultan predisponentes para el desarrollo de estas complicaciones.

En el 2006 Wolford y Yeatts en un estudio realizado en Indios Pima no encontraron relación entre la presencia de múltiples polimorfismos de nucleótido único (SNPs) y de repetición de dinucleótidos con el desarrollo de nefropatía diabética, sin embargo, Silvenius, en un estudio realizado en el 2004 encontró una asociación entre esta complicación y la presencia del polimorfismo de nucleótido único C(-106)T (33, 34).

En el trabajo desarrollado por Demaine y colaboradores en población británica durante el año 2000, se investigaron 2 regiones polimórficas en la región del promotor del gen de la aldosa reductasa, encontrando que este puede resultar susceptible o protector para el desarrollo de retinopatía diabética. Se determinó que los pacientes con esta complicación presentaron una mayor frecuencia en el haplotipo Z2/ C en comparación con los pacientes sin retinopatía diabética en presencia de una diabetes de más de 20 años de duración (35).

En el estudio realizado por Abhary en el 2010, se determinaron diversos polimorfismos del gen AKR1B1 ya anteriormente descritos en la literatura (SNPs y

de repetición de dinucleótidos), con la presencia de retinopatía diabética, y, aunque sí se encontró una asociación, al momento de establecer otros factores de riesgo (análisis multivariado), como la duración de la enfermedad o los valores de hemoglobina glucosilada, esta asociación no se mantuvo, lo que sugiere que la presencia de estos polimorfismos podría estar relacionada más con alguno de estos factores que directamente con la presencia de retinopatía diabética (36).

En estudios previos al año 2015, existía controversia entre la asociación del polimorfismo C(-106)T y el desarrollo de retinopatía diabética, encontrándose como factor predisponente en ciertas poblaciones como la japonesa y chilena, y sin asociación en población china y australiana. En el 2015 Zhou y colaboradores realizaron un metaanálisis en el buscaron esta relación, encontrando que la presencia del alelo "C" resulta un factor de riesgo para el desarrollo de esta complicación en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (35, 36, 37).

En el 2014 Wang encontró en un estudio realizado en población china, que la presencia del polimorfismo microsatélite (CA)_n de repetición de dinucleótidos en la región del promotor de la aldosa reductasa se asocia con un incremento en la susceptibilidad para el desarrollo de catarata en pacientes diabéticos (38).

Tan intentó relacionar la presencia de diversos SNPs con la presencia de catarata cortical en población australiana en un estudio realizado en el 2018 sin lograr establecer una asociación (39).

En nuestro estudio, se buscó la asociación entre la presencia del polimorfismo de nucleótido único C(-106)T y la presencia de catarata en pacientes diabéticos y sujetos sanos sin catarata.

Al realizar la detección genotípica por grupos, se encontró que el genotipo más frecuente en el grupo de controles fue el heterocigoto ("CT"), mientras que el menos frecuente fue el heterocigoto de citosina ("CC").

Dentro del grupo de pacientes, el genotipo más común fue el homocigoto para citosina ("CC"), y el menos común el homocigoto de timina ("TT").

Al realizar la determinación alélica, se encontró dentro del grupo de controles, el alelo más frecuente fue el de timina ("T"), mientras que el de citosina ("C") fue el menos frecuente, situación que se invirtió en el grupo de pacientes, el alelo más frecuente fue el de citosina ("C"), y el menos frecuente el de timina ("T").

El alelo "T" presentó un factor protector para el desarrollo de catarata, mientras que la presencia del alelo "C", resultó un factor de riesgo.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Zhou y colaboradores en el 2015, donde se encontró que la presencia del alelo "C" se asoció a un incremento de riesgo para la presencia de retinopatía diabética, y lo reportado por Cao y colaboradores, donde encontraron que la presencia del alelo "T" resulta protector para el desarrollo de retinopatía diabética (37, 40).

El estudio de la patogénesis genética de las enfermedades oculares ha permitido ampliar el conocimiento que existe sobre éstas. Se han logrado identificar los mecanismos moleculares asociados, así como se ha evidenciado la existencia de nuevas dianas moleculares con potencial terapéutico que permiten aplicar los conocimientos obtenidos en la investigación básica hacia la práctica clínica, pudiendo de esta forma modificar considerablemente el enfoque farmacológico de estos desórdenes a corto y largo plazo.

La presencia de un polimorfismo (alelo específico) puede resultar ser un factor causante de ciertas enfermedades, por lo que la detección de este alelo permitiría determinar la predisposición genética a esta enfermedad.

Los estudios de detección de polimorfismos son controversiales, sin embargo, a medida que se detectan nuevos genes asociados con el riesgo de diversas patologías se hace imperativa la replicación de dichos estudios para confirmar tales asociaciones y establecer las variantes polimórficas en las diversas poblaciones humanas.

CONCLUSIÓN

Se encontró una asociación entre el desarrollo de catarata en pacientes diabéticos y la presencia del polimorfismo C(-106)T del gen AKR1B1.

APÉNDICE

ASPECTOS ÉTICOS

A todos los pacientes que decidieron participar en el estudio se les proporcionó un consentimiento informado, los cuales debieron ser firmados para poder ser parte del mismo. Este protocolo se basa en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, los principios éticos de la Declaración de Helsinki y declaraciones de la International Conference of Harmonization.

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente; los residuos que se deriven serán manejados en términos de la propia ley, su reglamento y normas oficiales mexicanas que expida la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, previa opinión de diversas dependencias que tengan alguna injerencia en la materia correspondiéndole a la citada SEMARNAT su regulación y control. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) serán manejados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087ECOL-SSA1-2002.

CONSENTIMIENTO INFORMADO



CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

En esta institución se desarrollan investigaciones que forman parte de nuestro quehacer científico. Las características de su padecimiento son consideradas de interés para participar en este estudio de acuerdo a las especificaciones siguientes:

Datos generales

<i>Datos del paciente</i>	Nombre: Fecha de nacimiento:	
<i>Expediente clínico No.</i>		
<i>Médico informante (investigador principal):</i>	Dra. Liliana Cristal Salinas Cerrillo	Firma:
<i>Diagnóstico</i>		

Datos de la investigación

<i>Nombre del protocolo</i>	“Polimorfismo del gen AKR1B1 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y catarata.”
<i>Investigadores</i>	Dra. Liliana Cristal Salinas Cerrillo; Dra. Claudia Palacio Pastrana; Dr. Héctor Pérez Cano
<i>Justificación y objetivos</i>	Determinar la relación del polimorfismo -106>T del gen ARK1B1 y el desarrollo de catarata en pacientes con diagnóstico de diabetes.
<i>Periodo de estudio o duración</i>	
<i>Cantidad de sujetos que participarán</i>	
<i>Descripción de los métodos a emplear y su propósito</i>	Toma de muestra de sangre periférica completa, usando EDTA como anticoagulante. Se realizará extracción de DNA utilizando el kit QIAamp mini kit® (Qiagen) siguiendo las indicaciones del proveedor, se realizará la amplificación del gen ARK1B1 mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en ingles) utilizando oligonucleótidos diseñados para la región de los SNPs a estudiar. Posteriormente se realizará secuenciación directa utilizando la técnica de secuenciación por terminadores fluorescentes (BigDye). Se analizarán los datos obtenidos.
<i>Beneficios esperados:</i>	
<i>Alternativas:</i>	No participar en el estudio.

<i>Riesgos o molestias:</i>	Dolor en sitio de punción, equimosis, infección.
<i>Grupo de control</i>	En caso de que la presente investigación incluya un grupo de control, la selección de los participantes se sujetará a un proceso estrictamente aleatorio e imparcial, privilegiando la prevención de cualquier riesgo o daño para sus integrantes.
<i>Gastos</i>	Los gastos de la investigación serán cubiertos por la institución.
<i>Confidencialidad</i>	Su identidad y la información que proporcione como parte de esta investigación serán tratadas bajo criterios de confidencialidad. En caso de que los resultados exijan su identificación, previamente se le solicitará la autorización correspondiente.
<i>Dudas, aclaraciones y actualización</i>	El participante tendrá derecho a recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y su tratamiento. Asimismo, durante el presente estudio le proporcionaremos información actualizada sobre su estado de salud para que esté en posibilidad de decidir si continúa participando. Es importante que sepa que retirar su participación no afectará su atención en el hospital.

Consentimiento

Por este medio manifiesto mi satisfacción con la información recibida y, consciente de las especificaciones y en qué consiste la investigación descrita en este documento, sus beneficios, riesgos y consecuencias, **otorgo mi consentimiento para incorporarme a ella, asumiendo el compromiso de (1) asistir puntualmente a las citas que se me indiquen y (2) proporcionar verazmente la información de mi evolución en la forma y periodicidad que se requiera.**

Asimismo, entiendo que puedo retirarme de esta investigación voluntariamente en cualquier momento sin mayor requisito que la manifestación al investigador principal o a la Dirección Médica de este hospital.

México D.F. a ___ de _____ de ____.

Firma del paciente

Testigos

Nombre y firma

Nombre y firma

Domicilio:

Domicilio:

Relación con el paciente:

Relación con el paciente:

Bibliografía

1. INEGI. Estadísticas a propósito del día internacional de la discapacidad. Notas descriptivas. 2014.
2. OMS. Ceguera y discapacidad visual. 2014; 282.
3. Penniecook-Sawyers JA, Celis-Suazo B, Martínez-Castro JF. La catarata sigue siendo la principal causa de ceguera en economías emergentes, incluyendo México. Revista Mexicana de Oftalmología. 2014; 88.
4. Li L, Xiu-hua W, Guo-hong Z. Meta-analysis of the risk of cataract in type 2. BMC Ophthalmology. 2014; 14 (94).
5. ENSANUT. Últimas cifras de diabetes en México. 2016.
6. Satish K, Srivastava KV, Bhatnagara A. Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. Endocrine Reviews. 2005; 26.
7. Barquera S, Campos-Nonato I, Aguilar-Salinas S, et al. Diabetes in Mexico: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy. Globalization and Health. 2013; 8-13.
9. Lathika VK, Ajith TA. Association of cataract with duration of diabetes, age and gender in patients with type 2 diabetes mellitus. Int J Adv Med. 2016 May; 3(2): 304-308.
10. Sreekanth B. A clinical study on risk factors cataracts in young adults. International Journal of Scientific Study. 2017 Dec; 5(9): 120-124.

11. Steinle NC, Lampen S, Wykoff C. The intersection of diabetes mellitus and cataract surgery: current state of management. *Ophthalmology Retina*. 2018 Feb; 2: 83-85.
12. Adiga UA, Harris A. Serum electrolytes in cataract patients with and without diabetes mellitus. *IJBCRR*. 2017 Oct; 19(3) 1-5.
13. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, et al. Diabetic retinopathy: a position statement by the american diabetes association. *Diabetes Care*. 2017 Ene; 40: 412-418
14. Naterly A. The pathophysiology of cataract and major interventions to retarding its progression: a mini review. *Adv Ophthalmol Vis Syst*. 2017 Feb; 6(3): 00178.
15. Raju M, Chisholm M, Mosa ASM, et al. Investigating risk factors for cataract using the center health facts database. *Adv Ophthalmol Vis Syst*. 2017 Feb; 3(1:19): 1-6
16. Srinivasan S. Cataract surgery in patients with diabetes. *FRCSEd, FRCOphth, FACS*. 2017: 1369-1370.
17. Peterson SR, Silva PA, Murtha TJ, et al. Cataract surgery in patients with diabetes: management strategies. *Seminars in Ophthalmology, Early Online*. 2017 Nov;1-823.
18. Goyal S, Hardin J, Uwaydat SH, et al. Review and update of cataract surgery in the diabetic eye. *Expert review of ophthalmology*. 2017 Jul; 1-13.

19. Patel P, Jivani N, Malaviya S, et al. Cataract: a major secondary diabetic complication. *International Current Pharmaceutical Journal*. 2012 Dic; 1(7): 180-185.
20. Tanaka S, Hayashi Y, Sumioka T, et al. Influence of underlying diabetes mellitus and hypertension on blood pressure alterations in japanese outpatient cataract surgery patients. *Journal of Eye and Cataract Surgery*. 2017 Sept; 3 (37): 1-5.
21. Memon AF, Mahar PS, Mumtaz SN, et al. Age- related cataract and it types in patients with and without type 2 diabetes mellitus: a hospital-based comparative study. *J Park Med Assoc*. 2017 Oct; 66(10): 1272-1275.
22. Hulke SM, Dhone PG, Vaidya PV et al. Pathogenesis of diabetic cataract. *Acta Biomedica Scientia*. 2017 Oct; 4(1) 28-34.
23. Herman MP, Ahn SA, Rousseau MF. Statin therapy and cataract in type 2 diabetes. *Elsevier Mason*, 2010;37.
24. Bhatia G, Abhang S, Sontakke AN. Significance of aldose reductase in diabetic cataract. *Int J Cur Res Rev*. 2017 Jun; 9(11): 48-52.
25. Andersson D, Stefansson E, et al. The prevalence of cataract in a population with and without type 2 diabetes. *Acta Ophthalmologica*, 2012 : 90.
26. Spiro RG. Role of insulin in two pathways of glucosa metabolism: in vivo glucosamine and glycogen sythesis. *Acad Sci*. 2007: 82.

27. Gene cards: Human data base [Internet]. Weizman Institute of Science; 2019 [citado Feb 2019]; Disponible en: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKR1B1>.
28. Abhary S, Burdon KP, Laurie KJ et al. Aldose reductase polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility. *Diabetes Care*. 2017 Aug; 33(8): 1834-1836.
29. Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Frontiers in pharmacology*. 2012 May; 3(87): 1-833.
30. Sripichai O, Fucharoen S. Genetic polymorphisms and implication for human disases. *J Med Assoc Thai*. 2007 Dic. 90(2); 394-8.
31. Ramana KV. Aldose reductase: new insights for an old enzyme. *Biomol Concepts*. 2011 Abr; 2(1-2): 103-114.
32. Kaaur N, Vanita V. Association of aldose reductase gen AKR1B1 polymorphism with diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2016.;121: 41-48.
33. Woldford JK, Yeatts KA, Red Eagle AR, et al. Variants in the gene encoding aldose reductase (AKR1B1) and diabetic nephropathy in American Indians. *Diabetic Medicine*. 2007 Ene;23: 367-376 35.
34. K. Silvenius, L. Niskanen, R. Vuolteenen-Kaunisto, M. Laaksot y M, Uusitupa Aldose reductase gene polymorphisms and susceptibility to microvascular complications in Type 2 diabetes. *Diabetes UK; Kuopio, Finlandia* 2004 21; 1325-1333.

35. Demaine AG. Polymorphisms of the aldose reductase gene and susceptibility to diabetic microvascular complications. *Current Medicinal Chemistry*. 2003; 10: 1389-1398.
36. Abhary S, Burdon KP, Laurie KJ et al. Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility. *Diabetic Care*. 2010 Ago; 33(8): 1834-1836.
37. Zhou M, Zhang P, Xu X, et al. The relationship between aldose reductase C106T polymorphism and diabetic retinopathy: an updated meta-analysis. *Genetics*. 2015 Abr; 56: 2279-2289.
38. Wang Y, Luk A, Ng Maggie et al. Additive effect of aldose reductase Z-4 microsatellite polymorphism and glycaemic control on cataract development in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2014 Ene; 28: 147-151.
39. Tan AG, Kifley A, Holliday EG, et al. Aldose reductase polymorphisms, fasting blood glucose and age-related cortical cataract. *IOVS*. 2018 Sept; 59(11): 4755-4762.
40. Cao M, Tian Z, Zhang L et al. Genetic association of AKR1B1 gene polymorphism rs759853 with diabetic retinopathy risk: a meta-analysis. *Gene*. 2018 Jul.
41. Cruz-Hernandez J, Licea-Puig ME, Hernandez-García P, et al. Aldosa reductasa y proteína C en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Medigraphic*. 2012.

42. Diéz-Dacal B, Sánchez-Gómez FJ, Sánchez-Murcia PA, et al. Molecular interactions and implications of aldose reductase inhibition by PGA1 and clinical used prostaglandins. *Mol Pharmacol*. 2016 Ene; 89: 42-52.
43. Badria FA, Elimam DM, Elabshihy MSI et al. Aldose reductase inhibitor from nature: a new hope for treatment of cataract. *JOJ Ophthalmology*. 2017 Sept; 5(1): 1-6.
44. Zablocki GJ, Ruzycki PA, Petrash JM, et al. Aldose reductase-mediated induction of epithelium-to-mesenchymal transition (MET) in lens. *Chem Biol Interact*. 2011 May; 191(1-3): 351-356.
45. Ahlqvist E, van Zuydam NR, Groop LC, et al. The genetics of diabetic complications. *Nat. Rev. Nephrol*. 2015 Mar.
46. Rodríguez JA, Martínez LM, et al. Terapia génica para el tratamiento del cáncer. *Rev Colomb Cancerol*. 2014; 18 (1): 27-40.
47. Lozano-Guzmán E, Reza-García O, et al. Polimorfismos genéticos asociados a la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Meicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2010; 41 (4): 7-17.