

Marcadores genéticos en retinopatía diabética proliferativa en mexicanos portadores de diabetes mellitus no insulino dependiente

Maribel De Anda-Turati,* Julio Granados Arriola,** Hugo Quiroz Mercado***

RESUMEN

Existe predisposición genética para el desarrollo de diabetes mellitus. La retinopatía diabética es una de sus complicaciones. Los mestizos mexicanos tienen una prevalencia alta para el desarrollo de diabetes mellitus; por ello resulta importante su estudio en cuanto a la susceptibilidad o resistencia para el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa en diabetes mellitus no insulino dependiente. **Objetivos:** Identificar los alelos del complejo mayor de histocompatibilidad como marcadores de susceptibilidad o resistencia al desarrollo de retinopatía diabética proliferativa en pacientes mexicanos con diabetes mellitus no insulino dependiente. **Material y métodos:** Fueron incluidos 50 pacientes que fueron clasificados de acuerdo a sus antígenos clase I y clase II del complejo mayor de histocompatibilidad. Los antígenos clase II fueron sometidos al análisis del DNA después de la amplificación de sus genes. Las diferencias significativas entre los dos grupos fueron analizadas por medio de la prueba de χ^2 y la prueba exacta de Fisher. **Resultados:** Se encontraron incrementos significativos del HLA-B35 y HLA-B40 en todos los pacientes estudiados. **Conclusiones:** Se observó un aumento significativo en la incidencia de DR6 como marcador de susceptibilidad al desarrollo de retinopatía diabética, así como el efecto protector de los antígenos DR9, DR10 y DR5. Aunque nuestro grupo es pequeño, encontramos resultados estadísticamente significativos que consideramos importantes.

Palabras clave: Diabetes mellitus, retinopatía diabética proliferativa, antígenos de histocompatibilidad.

ABSTRACT

Diabetic proliferative retinopathy (DPR) is one the most important complications related to diabetes mellitus. There is a high prevalence for the development of diabetes mellitus in Mexican mestizos and for these reason, it is interesting to know if there can be any genetic susceptibility or resistance for the development of these kind of complications related to diabetes mellitus. The goal of this study is to identify the alleli of the genes of the major histocompatibility complex as proliferative diabetic retinopathy in Mexican patients with no insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). We included 50 patients who were genetically classified in class I and II in the major histocompatibility complex. The results were analyzed by the χ^2 and Fisher's test. We found significant increments of HLA-B35 and HLA-B40 in all our patients. The antigens that can provide protection for the development of DPR are DR-9, DR-10, DR-5. The antigen related to susceptibility is DR-6. Nevertheless our group is very small, we found statistically significant results, which we consider important.

Key words: Diabetes mellitus, diabetic proliferative retinopathy, histocompatibility antigens.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es un trastorno primario del metabolismo de carbohidratos, de etiología multifactorial, aunque destaca la influencia genética sobre la susceptibilidad para la deficiencia absoluta o relativa de insulina, resistencia a esta última o ambas, llevando finalmente a hiperglucemia con las consecuencias a largo plazo de esta alteración por todos conocidos como es la retinopatía diabética, entre otras.

En este trabajo, nos ocuparemos de la retinopatía diabética proliferativa, cuyo efecto fisiopatológico-

* Asociación para Evitar la Ceguera en México.

** Servicio de Inmunología del Instituto Nacional de la Nutrición.

*** Servicio de Retina. Asociación para Evitar la Ceguera en México.

Recibido para publicación: 24/02/00. Aceptado para publicación: 18/04/00.

Dirección para correspondencia: Maribel De Anda-Turati
Bosque de Pinos núm. 16, Bosques de las Lomas
11700 México D.F. Tel: 5-596-46-72.

co se encuentra en los capilares retinianos, caracterizándose por la muerte focalizada de éstos por oclusión vascular que provoca isquemia retiniana y genera hipoxia celular con la subsecuente neovascularización. Los capilares proliferan de manera excesiva no sólo en la retina, sino también en el vítreo, provocando hemorragia vítrea, desprendimiento de retina y ceguera.

Existen dos formas de diabetes etiopatogénicamente distinguibles, el tipo I (insulinodependiente) que parece resultar de un trastorno autoinmune, mientras que en el tipo II (no insulinodependiente) no se ha demostrado autoinmunidad.^{1,2}

La incidencia de diabetes mellitus no insulinodependiente (DMNID) en México, según datos del Instituto Nacional de la Nutrición, hasta diciembre de 1996 fue del 8%.

Independientemente el tipo, ambas cursan con manifestaciones tardías que provocan deterioro en la calidad de vida del paciente.

Se sabe que las enfermedades asociadas con antígenos de histocompatibilidad (HLA) son en su mayoría de origen autoinmune. Estos padecimientos tienen tendencia hereditaria, pero débil penetrancia.

La fuerza de la relación entre una enfermedad y un antígeno de histocompatibilidad en particular se cuantifica al calcular el riesgo relativo (RR), el cual se define como la posibilidad que tiene un paciente para desarrollar un padecimiento ligado a HLA en comparación con un paciente que no cuenta con ese antígeno.

Mientras el riesgo relativo sea mayor de 2, será más fuerte la coexistencia de relación entre el antígeno HLA y la enfermedad.^{2,3}

Relación de diabetes mellitus no insulinodependiente (DMNID) con HLA

Los alelos que aumentan la susceptibilidad para el desarrollo de diabetes mellitus son DR4, DR3, DR1, el heterocigoto DR3-DR4, DQ8 y a nivel de las secuencias de la cadena B del HLA-DQ la presencia de alanina, valina o serina en la posición 56.

Los alelos asociados con resistencia al desarrollo de diabetes mellitus son DR2, DR5, DQ7 y la presencia de ácido aspártico en la posición DQ8.

Los haplotipos extendidos B62, SC33, HLA-DR3 con B8 y con SC01, B18 con DR3 y con FIC30, aumentan la susceptibilidad para la DMID.

Hasta la fecha, no se conocen los marcadores de HLA relacionados con el desarrollo de DMNID debi-

do que esta variedad de la enfermedad es muy heterogénea desde el punto de vista genético.

La presencia de HLA-DR4 más DR3 se relaciona aumentando tres o cuatro veces más el riesgo de retinopatía diabética en DMID. No existe punto de comparación con la DMNID debido a que no se había realizado ningún estudio enfocado a la identificación de marcadores genéticos relacionados con diabetes mellitus no insulinodependiente y el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa.⁴⁻¹¹

Con base en lo planteado, los objetivos de este estudio fueron: 1) Conocer la presencia de marcadores genéticos asociados a la susceptibilidad o resistencia al desarrollo de retinopatía diabética proliferativa en DMNID. 2) Determinar la frecuencia de presentación de dichos antígenos HLA en pacientes mexicanos portadores de DMNID.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio clínico prospectivo, longitudinal, observacional, original y descriptivo entre el 1 de mayo y el 1 de diciembre de 1996, en el cual se incluyó un total de 50 pacientes portadores de DMNID con más de 15 años de evolución, sin datos de retinopatía diabética, y pacientes con DMNID con menos de 15 años de evolución con retinopatía diabética proliferativa. El hecho de hacer énfasis en los "15 años" de evolución de la diabetes se relacionan directamente con el hecho de que después de este tiempo las probabilidades de desarrollo de retinopatía diabética en cualquiera de sus variedades ya se encuentra demostrada por lo que teníamos que investigar el porqué existen pacientes con menos tiempo de evolución de la DMNID con retinopatía diabética proliferativa y otros pacientes con más de 15 años de evolución que no muestran datos de retinopatía diabética proliferativa. Los controles constituyen una publicación: *Frequency of class I and class II MHC antigens in Mexican mestizos obtained from family studies*; publicación que se encuentra en la revista *Human Biology*, en septiembre de 1994. Se tomó en cuenta al grupo control para comparar la frecuencia de presentación de estos antígenos con respecto a lo que mostraran nuestros pacientes.

Del total de sujetos, 22 (44%) fueron hombres y 28 (56%) mujeres, con edad que fluctuaba entre los 26 y 70 años (promedio de 32.3 años). Todos los enfermos presentaban DMNID. El total de pacientes evaluados con retinopatía fue 38 (76%), 20 hombres y 18 mujeres; los enfermos sin retinopatía sumaron

un total de 12 (24%), siete mujeres y cinco hombres. El tipo de retinopatía que presentaron los pacientes se muestra en los cuadros I y II. La tipificación del tipo de retinopatía se realizó con base en la clasificación ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group*) modificada.¹² Entre las principales complicaciones secundarias a la DMNID encontramos hipertensión arterial sistémica (HTAS), nefropatía, neuropatía y vasculopatía.

Criterios de inclusión. Pacientes con edad igual o menor de 70 años, con miopía menor de cinco dioptrías y sin antecedente de cirugía ocular o de infección por herpes virus, toxoplasmosis o histoplasmosis. Enfermos diabéticos no insulín dependientes con más de 15 años de evolución sin evidencia clínica de retinopatía diabética proliferativa. Sujetos diabéticos no insulín dependientes con menos de 15 años de evolución con retinopatía diabética proliferativa. Pacientes que no contaran con antecedente de haber recibido fotocoagulación con láser.

Con el fin de determinar los antígenos HLA en este grupo de pacientes, se obtuvo una muestra de 10 cm de sangre periférica misma que fue utilizada para la tipificación de estos antígenos. El análisis sanguíneo fue realizado en el Laboratorio de Inmunología del Instituto Nacional de la Nutrición.

Análisis estadístico. Las comparaciones en cuanto a las frecuencias génicas de los diferentes antígenos HLA en pacientes y controles se realizaron mediante la prueba de Ji-cuadrada de Mantel-

Haenszel, la cual combina tablas de contingencia de 2 x 2 para cada comparación usando el programa estadístico EPISTAT. Los valores de *P* fueron corregidos 8 para HLA-DR y 3 para HLA-DQ y 8 para los complotipos. El estudio requiere una *P* corregida porque en un diseño de casos y controles hay comparaciones múltiples lo que hace que simplemente por azar se pueda encontrar diferencias significativas entre un grupo y otro. Por esta razón, aquel valor de *p* resultado de las diferencias estadísticamente significativas debe corregirse multiplicando por el número de comparaciones, eliminando así las asociaciones espurias.

El riesgo relativo (RR) con intervalos con confianza del 95% se calculó como el producto cruzado, también utilizando el método de Mantel-Haenszel. El RR para el DR fue de 2.35 (significativo).

RESULTADOS

De los 50 pacientes analizados, 39 presentaron retinopatía diabética. Los antígenos HLA que predominaron en los sujetos sin retinopatía y que sugieren la presencia de protección hacia el desarrollo de la misma fueron: DR9 ($p < 0.05$), DR10 (RR = 1.4), DR5 ($p < 0.05$), el antígeno HLA que se relaciona con aumento de la susceptibilidad para el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa fue: DR6 ($p < 0.05$ con RR = 2.35). Finalmente cabe mencionar que el DR6 se presentó en igual proporción en mujeres y hombres. Lo que indica que su efecto es independiente del sexo. El efecto protector del DR9, DR10 y DR5, requiere confirmarse mediante una investigación con una muestra mayor.

DISCUSIÓN

Este estudio enfatiza la relación entre portadores de DMNID y el desarrollo de retinopatía diabética. Es importante porque es el primero en su tipo en analizar mexicanos y debido a que este grupo étnico es particularmente susceptible al desarrollo de retinopatía diabética.

La muestra es pequeña, pero a pesar de ello se observó un aumento significativo en la incidencia de DR6 como marcador de susceptibilidad al desarrollo de retinopatía diabética, así como el efecto protector de los antígenos DR9, DR10 y DR5. En este estudio no se valoró el control metabólico, que como ya se ha publicado, es uno de los factores de riesgo para el desarrollo de retinopatía diabética en pacientes con diabetes mellitus.⁴

Cuadro I. Distribución de los casos de acuerdo al tipo de retinopatía diabética proliferativa (RDP).

Tipo de RDP	n	%
Temprana	5	13.2
De alto riesgo	33	86.8
Total	38	100.0

Cuadro II. Distribución de los pacientes con retinopatía diabética no proliferativa.

Tipo de RDNP	n	%
Sin retinopatía diabética	3	25.0
RDNP leve	5	41.6
RDNP moderada	3	25.0
RDNP severa	1	8.4
Total	12	100.0

Es importante destacar que en la literatura sólo se menciona al DR4 como marcador de susceptibilidad para el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa en DMID, el presente estudio muestra al DR6 como factor predisponente.

Se encontraron incrementos significativos del HLA-B35 y HLA-B40 al realizar la tipificación de genes clase I en 50 pacientes.

El estudio de los marcadores genéticos permite, por un lado, entender el mecanismo fisiopatogénico de la retinopatía diabética y, por otro, detectar individuos susceptibles de desarrollar esta complicación y, en consecuencia, someterlos a vigilancia y tratamiento intensivos.

CONCLUSIÓN

Existen datos sugestivos de que los pacientes mexicanos portadores de diabetes mellitus poseen genes localizados dentro del complejo mayor de histocompatibilidad clase II que se relacionan con la susceptibilidad para el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa, como es el DR6, de la misma manera como hay genes que se relacionan con la protección para el desarrollo de retinopatía diabética proliferativa como son: DR9 y DR5. Es relevante ampliar los estudios en los descendientes de los individuos afectados; igualmente es deseable conocer si los marcadores genéticos de protección y susceptibilidad también ocurren en poblaciones genéticamente semejantes a la mexicana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Quiroz-Mercado H. *Retina. Diagnóstico y tratamiento*. McGraw-Hill Interamericana, 1996: 119-133.
2. OBain SC, Rowe BR et al. Parental origin of diabetes associated HLA types in sibling pairs with type I diabetes. *Diabetes* 1993; 43 (12): 1462-1468.
3. Granados-Arriola et al. Frequency of class I and II MHC antigens in Mexican mestizos. *Human Biology* 1997; 69: 809-818.
4. Rand SI, Krolewski MA et al. Multiple Factors in the prediction of risk of proliferative diabetic retinopathy. *New Engl J Med* 1988; 313 (23): 1433-1438.
5. Penny MA, Jenkins M, Mijovic CM et al. Susceptibility to IDDM in a Chinese Population Diabetes. *Diabetes* 1992; 41: 914-919.
6. Cruickshanks J, Vadheim M, Roth P et al. Genetic marker associations with proliferative retinopathy in persons diagnosed with diabetes before 30 years of age. *Diabetes* 1992; 41: 879-885.
7. Groop LC, Teir H et al. Risk factors and markers associated with proliferative retinopathy in patients with insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1986; 35 (12): 1397-1403.
8. Stewart LL, Field LL et al. Genetic risk factors in diabetic retinopathy. *Diabetology* 1993; 36 (12): 1293-1298.
9. Dharma-SK, D'Amico-DJ. HLA antigens and the development of diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol Clin* 1993; 33 (2): 93-99.
10. Frank-RN. Diabetic retinopathy: current concepts of evaluation and treatment. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15 (4): 933-969.
11. Baker-RS, Rand-LI et al. Influence of HLA-DR phenotype and myopia on the risk of nonproliferative and proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1989; 102 (6): 693-700.
12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group (ETDRS). Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS Report number 9. *Ophthalmology* 1991 (suppl); 1316-26.