



Universidad de Valladolid



## **Máster en Enfermería Oftalmológica**

Universidad de Valladolid

Trabajo de Fin de Máster

# **Meta-análisis de la relación entre ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP-3* y el riesgo a sufrir degeneración macular asociada a la edad.**

Autor:

**DIEGO MARTÍNEZ ALONSO**

Tutor:

**DR. RICARDO USATEGUI MARTÍN**



# **INDICES**

## **INDICES POR CAPÍTULOS**

<b>1. RESUMEN .....</b>	<b>2</b>
<b>2. ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>3. ABREVIATURAS.....</b>	<b>4</b>
<b>4. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>4</b>
<b>5. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>13</b>
<b>6. HIPÓTESIS .....</b>	<b>14</b>
<b>7. PICOT .....</b>	<b>14</b>
<b>8. OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>9. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>15</b>
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	15
CRITERIOS DE EXCLUSION.....	15
DISEÑO.....	15
ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA .....	15
ESTRATEGIA DE SELECCIÓN .....	16
OBTENCIÓN DE DATOS .....	16
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	16
<b>10. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
<b>11. DISCUSIÓN .....</b>	<b>24</b>
<b>12. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>13. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>28</b>

## **RESUMEN**

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) constituye la primera causa de pérdida visual irreversible en los países desarrollados, en personas mayores de 50 años y en la cual el condicionamiento genético es decisivo. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar el papel de polimorfismos del gen *TIMP3* en el riesgo de sufrir DMAE. Para ello se realizó una búsqueda sistemática para identificar todos los estudios de casos y controles que analizaban la influencia de polimorfismos en el gen *TIMP3* en el desarrollo de la DMAE. Posteriormente se realizó un meta-análisis de los estudios seleccionados. Se identificaron 8 artículos, de los cuales 1 presentaba 3 poblaciones diferentes, que relacionaran el gen *TIMP3* con el riesgo de desarrollar DMAE y que cumplieran los criterios de inclusión. Nuestros resultados mostraron que ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* se asoció con un menor riesgo de sufrir DMAE. Nuestro trabajo también consideró que presentar el polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* es un factor protector para el desarrollo de la DMAE reforzando la hipótesis de que alteraciones en el gen *TIMP3* están implicadas en la fisiopatología de la DMAE.

**Palabras clave:** Degeneración macular asociada a la edad, DMAE, *TIMP3*, polimorfismos, mutaciones, variantes.

## **ABSTRACT**

Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of irreversible visual loss in developed countries, in people over 50 years of age and in which genetic conditioning is decisive. The objective of our work was to study the role of *TIMP3* gene polymorphisms in the risk of suffering from AMD. To this end, a systematic search was carried out to identify all the case-control studies that analyzed the influence of polymorphisms in the *TIMP3* gene on the development of AMD. Subsequently, a meta-analysis of the selected studies was performed. Eight articles were identified, of which 1 presented 3 different populations, that related the *TIMP3* gene with the risk of developing AMD and that met the inclusion criteria. Our results showed that being a carrier of polymorphisms in the *TIMP3* gene was associated with a lower risk of AMD. Our work also showed that be carrier of the rs9621532 *TIMP3* polymorphism was a protective factor for the development of AMD, reinforcing the hypothesis that alterations in the *TIMP3* gene are involved in the pathophysiology of AMD.

**Key words:** Age-related macular degeneration, AMD, *TIMP3*, polymorphisms, mutations, variants.

## **INTRODUCCIÓN**

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) constituye la primera causa de pérdida visual irreversible en los países desarrollados, en personas mayores de 50 años. Se trata de un proceso degenerativo que afecta a la mácula, a la membrana de Bruch y a la coriocapilar. Existe una forma comúnmente denominada maculopatía asociada a la edad (MAE), que incluye todos los cambios que se observan en la mácula relacionados con la edad, sin llegar a afectar la función visual. Por el contrario, el término DMAE implica la pérdida de agudeza visual por la aparición de drusas, atrofia del epitelio pigmentario de la retina (EPR) o por neovascularización coroidea (1).

Actualmente se estiman cifras de prevalencia del 0,2% al 5,4% para personas entre 60 y 85 años de edad, y del 12% al 30,8% en las de 85 años y más. En el caso de los países desarrollados como los Estados Unidos se calcula que la DMAE en estadios avanzados con compromiso de la visión afecta a más de 1,7 millones de personas, con otros 7 millones de personas más en situación de alto riesgo para un estadio avanzado de la enfermedad (2). Respecto a la prevalencia global de esta enfermedad se describe una prevalencia global del 8,7% en el rango de 45 a 85 años. Se prevé que, debido al envejecimiento progresivo de la población y el aumento de la esperanza de vida, la prevalencia y la carga de la enfermedad aumenten en todo el mundo en las próximas décadas (3).

Los síntomas son diferentes según cada persona y el estado evolutivo de la enfermedad. En muchas ocasiones cuando está afectado un ojo los síntomas no son apreciables mientras que en la afectación bilateral es muy acusada la pérdida de visión central. En la DMAE la visión central es borrosa, por lo que, aunque existen pocos problemas al deambular, se dificulta el reconocimiento de personas o actividades como leer o conducir. Las líneas rectas pueden aparecer distorsionadas y para su verificación se emplea la rejilla de Amsler (4).

Los síntomas de afectación macular de mayor a menor frecuencia son la afectación de la visión central, conservándose la visión periférica, metamorfopsias (alteración en la forma de la imagen), micropsia causado por el aumento de la separación entre los conos de la fovea produciendo una disminución en el tamaño de la imagen, macropsia causado por la compresión

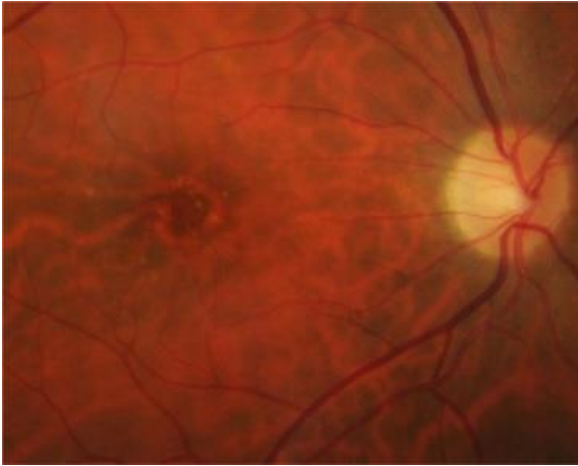
de los conos de la fóvea aumentando en el tamaño de la imagen. En los casos avanzados se aprecia un escotoma en el centro del campo visual (4).

Bajo la membrana de Bruch, se encuentra la coriocapilar. Es una fina capa de capilares que nutre a los fotorreceptores ya que la fóvea es avascular y es necesario para permitir la máxima transparencia. Los nutrientes, que provienen de la coriocapilar, deben ser transportados desde ésta a través de la membrana de Bruch y el EPR (5).

El EPR tiene un rol esencial en el mantenimiento de los fotorreceptores. Los bastones y conos desprenden los discos usados. Estos discos son fagocitados por el EPR, que está en íntimo contacto con los segmentos externos de los fotorreceptores. Estos discos son digeridos por la acción de enzimas y degradados para ser reciclados. Sin embargo, con el paso de los años, este mecanismo falla. Moléculas alteradas por el daño oxidativo no son reconocidas por los enzimas y el material no digerido empieza a acumularse dentro del EP y la membrana de Bruch. Este depósito excesivo puede llegar a ser patológico, formándose las denominadas drusas, primera manifestación visible de DMAE (5).

Según los diferentes estadios de la evolución de la DMAE se puede dividir en temprana y tardía.

La DMAE temprana se caracteriza por la aparición de drusas y anomalías pigmentarias. Las drusas aparecen como nódulos blanco-amarillentos de diferentes tamaños (Figura 1). Si no se asocian a lesión macular no suelen producir síntomas. Se trata de depósitos localizados entre la membrana basal del (EPR) y la membrana de Bruch. Se han relacionado con la isquemia coroidea crónica, con la incapacidad del epitelio pigmentario para actuar como sistema de limpieza de la retina externa y fotorreceptores, y con factores nutricionales, genéticos y ambientales. Más recientemente se ha considerado la toxicidad de la luz, capaz de provocar la formación de radicales libres que pueden lesionar los fotorreceptores. El resultado final es la incapacidad del EP de digerir estas moléculas dañadas, dando lugar a una secreción y acumulación de materiales en la porción basal del EPR que se manifiestan como drusas (6).



**Figura 1.** Fondo de ojo DMAE Temprana (7).

La clasificación más utilizada en clínica se basa en el aspecto anatómico de la lesión, considerando dos grupos: drusas duras o drusas blandas. Las drusas duras constituyen una característica del envejecimiento fisiológico de las personas y actualmente se consideran de bajo riesgo evolutivo. En la angiografía muestran una hiperfluorescencia temprana debida a la atrofia del EPR suprayacente. Las drusas blandas presentan mayor riesgo evolutivo y se asocian con el desarrollo de neovasos. Para algunos autores el riesgo de desarrollar una DMAE neovascular aumenta con algunas características de las drusas, tales como estar presentes en un número mayor de cinco, en tamaño mayor de  $63\ \mu\text{m}$ , con localización central, porcentaje de confluencia elevado y asociación con alteraciones pigmentarias (8).

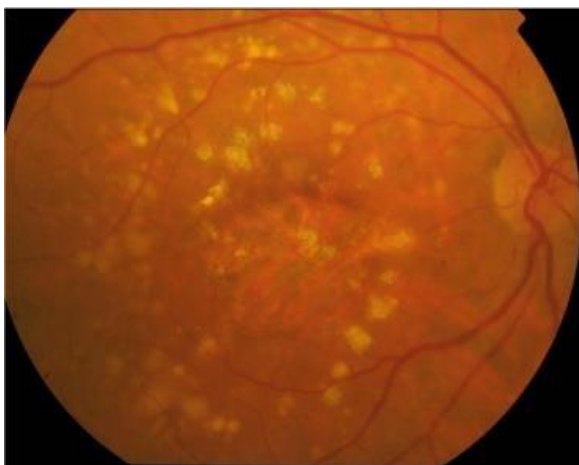
Alteraciones pigmentarias. Las anomalías pigmentarias que aparecen en las fases iniciales de la DMAE son de dos tipos:

- Hipopigmentación: se corresponde con áreas puntiformes de bordes mal definidos, en las que se ha producido un adelgazamiento del EP por encima de una membrana de Bruch muy engrosada. A diferencia de la atrofia geográfica, los vasos coroideos subretinianos no se visualizan oftalmoscópicamente. Angiográficamente se observan áreas de hiperfluorescencia punteada durante los tiempos iniciales, con desaparición tardía del colorante (9).



- Hiperpigmentación: consiste en pequeñas áreas de acúmulo de pigmento situado en la retina externa o en el espacio subretiniano. Junto a estos acúmulos coexisten pequeñas imágenes puntiformes de despigmentación, que suelen ofrecer en conjunto un aspecto reticulado e irregular. En la angiofluoresceingrafía la hiperpigmentación bloquea la fluorescencia coroidea (9).

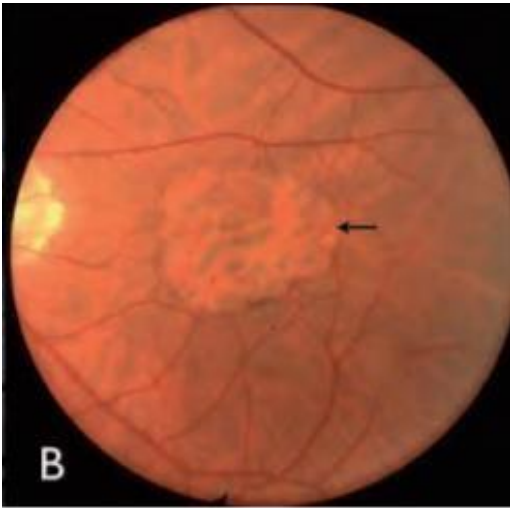
En el caso de la DMAE tardía se observan drusas grandes y anomalías hiper o hipopigmentarias (Figura 2). A su vez, la DMAE tardía se puede dividir en DMAE atrófica o seca y DMAE húmeda o exudativa (10).



**Figura 2.** Fondo de ojo DMAE Tardía. (7)

DMAE atrófica o seca. Es la forma más frecuente de la DMAE tardía y constituye el 85% de los casos. La DMAE no exudativa se caracteriza por la presencia de depósitos amarillos (drusas) en la mácula y áreas focales de atrofia del EPR definidas, que se asocian con diversos grados de pérdida del campo visual central (figura 3). A medida que las drusas crecen en tamaño y aumentan en número, pueden provocar una disminución de la visión que los pacientes refieren más notoria cuando leen (10).

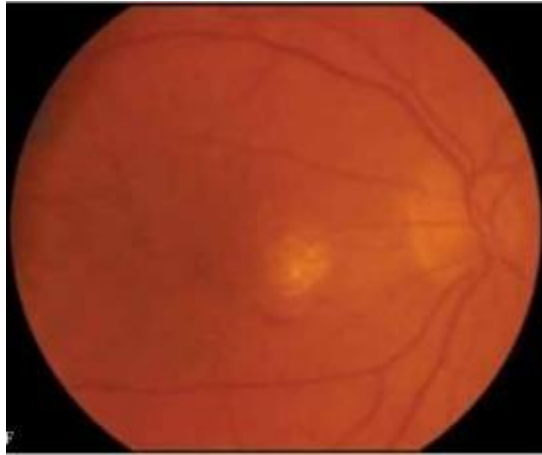
En estadios avanzados de la DMAE no exudativa, hay pérdida del EPR y adelgazamiento de los FR en la mácula, lo cual, conduce a atrofia. En la DMAE seca los pacientes tienen puntos ciegos en el centro de su visión, mientras que, en las etapas avanzadas la pérdida de visión es central es total (10).



**Figura 3.** Fondo de ojo DAME Atrófica. (11)

DMAE húmeda. Está causada por el crecimiento de neovasos de origen coroideo, que a través de rupturas de la membrana de Bruch proliferan debajo del EP y en el espacio situado entre el EP y la retina (Figura 4). Evoluciona hacia la formación de una cicatriz fibrosa que constituye la degeneración disciforme senil. Se caracteriza en que la clínica de esta fase es la de un enfermo que súbitamente refiere disminución de agudeza visual asociada a metamorfopsias, escotomas centrales que dificultan la visión cercana y cambios repentinos en la visión central (12).

La visualización de los neovasos coroideos se confirma mediante el estudio angiográfico; sin embargo, en ocasiones el complejo neovascular se puede observar oftalmoscópicamente como una imagen subretiniana grisácea o amarillenta de forma redondeada u ovalada, y su tamaño varía desde un aspecto puntiforme hasta alcanzar diámetros mayores. Es frecuente la presencia de hemorragias subretinianas circulares o semilunares delimitando el borde de la zona neovascular, aunque en ocasiones pueden alcanzar dimensiones mayores y ocultar toda la neovascularización subretiniana (NVSR) (4).



**Figura 4.** Fondo de ojo DMAE Exudativa. (11)

Aunque la patogenia es muy compleja, en la actualidad se considera que el estrés oxidativo es una de las principales causas del desarrollo de la DMAE. De hecho, la retina es una de las partes del ojo más sensibles a la acción de los radicales libres porque consume grandes cantidades de oxígeno y recibe altos niveles de irradiación lumínica (13).

La DMAE es una enfermedad multifactorial, todavía se desconoce exactamente los factores de riesgo que lo produce siendo la principal causa el envejecimiento. Sin embargo, los factores de riesgo ambientales y genéticos también influyen de manera determinante (14).

- Edad. Principal causa de la DMAE producido por el depósito de lipofuccina entre el EP y la membrana de Bruch formando las denominadas drusas; primera manifestación oftalmoscópicamente visible.
- Herencia familiar: Se ha demostrado que la probabilidad de desarrollar DMAE aumenta hasta 4 veces si hay antecedentes familiares, 12 veces si se tiene un hermano afectado y hasta 27,5 veces si es el progenitor el que tiene la enfermedad (15).
- Factores genéticos: Numerosos estudios respaldan la relaciones entre la variación genética y el riesgo a padecer DMAE (16).
- Sexo. Siendo más frecuente en mujeres.

- Raza. Aumenta la incidencia en gente de raza blanca.
- Color de iris claro.
- Factores ambientales como el tabaquismo teniendo un relativo en mujeres y hombres de 2,4 y 2,5 respectivamente. Exposición a luz ultravioleta.
- Obesidad abdominal y sedentarismo teniendo un RR para un índice de masa corporal igual o mayor de 30 de 2.35 (14).

El tratamiento va dirigido según el tipo de DMAE que presente el paciente, sin embargo, existen unas recomendaciones higiénico-dietéticas que ayudan a prevenir la evolución de la enfermedad. Suspender hábito tabáquico, control de la hipertensión arterial (HTA), colesterol y obesidad. Protección contra la exposición solar. Dieta rica en zeaxantina y luteína, presentes generalmente en frutas y verduras y la yema de huevo, además se aconsejan alimentos ricos en omega3 (17).

El tratamiento de las formas no exudativas cuando exista alto riesgo, como drusas blandas consiste en la administración de vitaminas antioxidantes (E, C y  $\beta$ -carotenos) y suplementos minerales (Zinc) pueden reducir el riesgo de pérdida de visión moderada en pacientes con DMAE temprana/intermedia y DMAE atrófica. No se debe suplementar  $\beta$ -carotenos en fumadores, ya que pueden incrementar el riesgo de cáncer de pulmón (8).

En los casos de membranas neovasculares coroideas (MNVC) extrafoveal se utiliza fotocoagulación láser, aunque el beneficio disminuye debido al crecimiento recurrente llegando el 50% de los pacientes tratados a desarrollar MNVC subfoveal durante los 5 años posteriores al tratamiento. Vitrectomía, cuando existe hemorragia submacular masiva como consecuencia de la forma exudativa y en algunas membranas neovasculares cuya extensión no afecte la zona avascular de la fovea. MNVC yuxta y subfoveales, tratamiento mediante terapia fotodinámica e inyecciones intravítreas de fármacos antiangiogénicos (8).

En el tratamiento con terapia fotodinámica se emplea de manera concomitante verteporfina combinado con estimulación láser de longitud de onda roja. En DMAE exudativa combinada con intravítreas, en algunos casos refractarios y para reducir el número de inyecciones (8).

Los fármacos antiangiogénicos son administrados por vía intravítrea, mediante inyecciones realizadas de forma periódica, ya que su vida media es corta. Actualmente, el tratamiento más eficaz. Tratamiento farmacológico con preparados anti-factor crecimiento endotelial vascular (VEGF) (18).

### **GENETICA DE LA DMAE: metaloproteasas e inhibidores tisulares de metaloproteasas.**

Existen al menos 15 genes que se han asociado a la DMAE (19).

Los estudios de vinculación de la DMAE utilizando familias numerosas han sido difíciles debido a la aparición tardía de enfermedad, variabilidad fenotípica y efectos fenotípicos. Varios estudios independientes y un metaanálisis de exploraciones múltiples del genoma sugirieron loci de susceptibilidad con gran efecto en los cromosomas 1q31 y 10q26. Además, estos estudios proporcionaron pruebas de vinculación en muchos otros cromosomas, incluida una región en el cromosoma 22 donde se sitúa el gen *TIMP3*, gen mutado en la distrofia del fondo de ojo de Sorsby (19). Esta enfermedad es una distrofia macular progresiva autosómica dominante poco frecuente, que se presenta entre la tercera y la sexta década de vida y que se caracteriza por la atrofia retiniana y desprendimiento de retina, dando lugar a pérdida de visión central, seguidamente la periférica y finalmente ceguera total (20).

Las metaloproteasas (MMP) son enzimas proteolíticas formadas por 23 proteínas, encargadas de descomponer sustancias como el colágeno y se encuentran en los espacios entre las células de los tejidos, es decir, en la matriz extracelular. Para permitir el funcionamiento de las MMP necesitan la presencia de ZINC o Cobalto. Estas enzimas participan en diferentes funciones como proteólisis, adhesión celular, angiogénesis, cicatrización, inflamación y proliferación celular. Las MMP actúan cuando se debe remodelar la matriz extracelular y su alteración puede afectar a la estructura de ésta (21).

Los inhibidores tisulares de metaloproteasas (TIMP) son proteínas que inhiben específicamente la acción de las MMP por lo que se encargan de regular su acción. Se unen a las MMP de manera 1:1. Con la actuación de las MMP estimulan la secreción de TIMP de manera que se produce una autorregulación en el funcionamiento de este complejo. Se ha demostrado que las MMP y las

TIMP juegan un papel importante en la homeostasis y los cambios de la matriz extracelular (22).

El EPR controla la síntesis de colágeno para la membrana de Bruch y participa en la regulación de las MMP y el proceso MMP/TIMP mantiene la integridad de la membrana de Bruch. Al igual que una alteración de las MMP, si se produce una alteración de las TIMP este equilibrio se vería afectado y se alteraría la estructura de la membrana (23).

El gen *TIMP3* tiene su localización cromosómica en 22q12.3 (Figura 5). Existen 4 tipos de TIMP, siendo la TIMP3 la única que actúa sobre todos los tipos de MMP.

Existe otra familia de metaloproteinasas conocidas bajo la sigla de ADAM (desintegrin and metaloproteinas) 12-14. Fueron descritas en la década del 90 y hasta el momento se conocen en el hombre 25 subtipos. Presentan la particularidad de estar unidas a una molécula de desintegrina, ligando potencial para las integrinas y otros receptores. ADAMs son proteínas de membrana multifuncionales con una organización compleja de dominios que comprende: secuencia señalizadora, dominio metaloproteinasas, dominio tipo desintegrina, región rica en cisterna, dominio tipo receptor del factor de crecimiento epidérmico, región transmembrana, dominio citoplasmático (23).

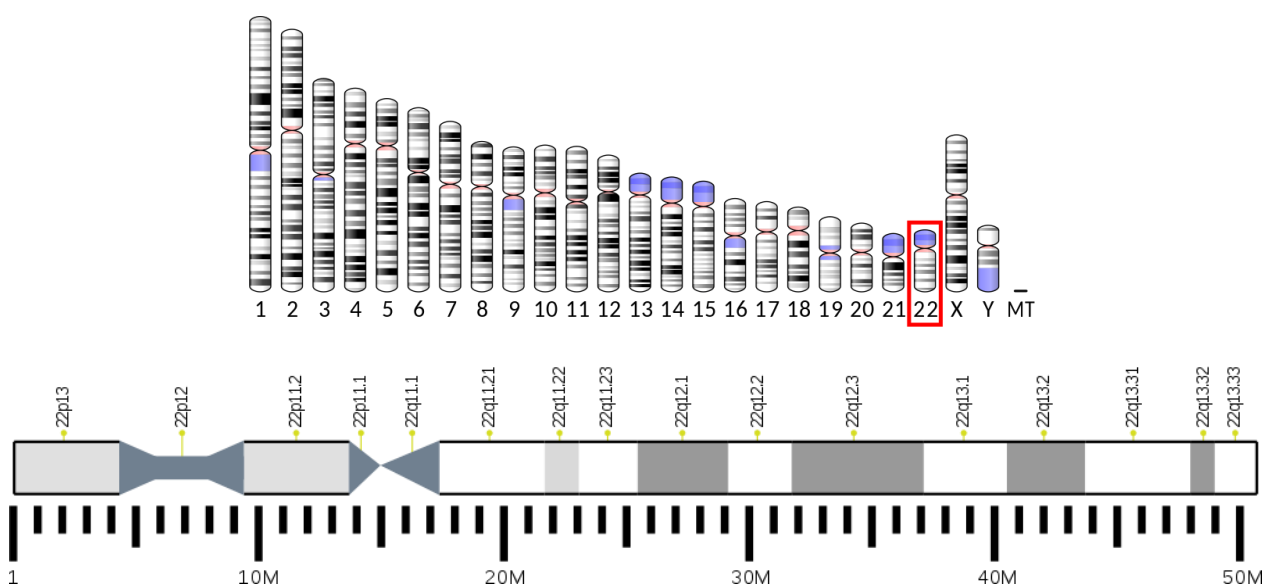


Figura 5. Localización cromosómica del gen *TIMP3*

## **JUSTIFICACIÓN**

Existen diferentes estudios que investigan sobre la relación que tiene las variantes génicas del gen *TIMP3* con la predisposición a padecer DMAE. Debido a que los trabajos publicados han utilizado diferentes poblaciones se plantea realizar una revisión sistemática de la literatura disponible y un meta-análisis para evaluar la influencia de las mutaciones del gen *TIMP3* con el riesgo de desarrollar DMAE. El propósito del trabajo fue evidenciar el cometido que desempeña el gen *TIMP3* en la fisiopatología de la DMAE y contribuir aumentando la información para favorecer el diagnóstico, tratamiento y prevención de la DMAE. Estos resultados podrían ayudar en el diagnóstico genético de la enfermedad, permitiendo un diagnóstico precoz y llevar a cabo acciones de asesoramiento genético.

## **2. HIPÓTESIS**

Polimorfismos en el gen *TIMP3* podrían predisponer al desarrollo de DMAE.

## **3. PICOT**

- **Paciente (P):** Pacientes con DMAE.
- **Intervención (I):** Polimorfismos del gen *TIMP3*.
- **Comparación (C):** Sujetos sanos.
- **Resultados (O):** Presencia de variantes genéticas en el gen *TIMP3* y predisposición a desarrollar DMAE.
- **Tiempo (T):** Estudios que cumplen criterios de inclusión y temporalidad.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO PRINCIPAL:**

Estudiar la influencia del ser portador de polimorfismos en gen *TIMP3* en el riesgo de sufrir DMAE

### **4.2 OBJETIVO SECUNDARIO:**

Analizar la influencia de ser portador del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* en la predisposición a padecer DMAE.



## **5. MATERIAL Y METODOS**

### **5.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Se han incluido todos los artículos científicos basados en el estudio de la frecuencia de polimorfismos en el gen *TIMP3* en pacientes diagnosticados de DMAE. Únicamente se incluyeron trabajos que también analizaran la frecuencia de polimorfismos en el gen *TIMP3* en sujetos no diagnosticados de DMAE (grupo control).

### **5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Se excluyeron todos los artículos que no analizaran polimorfismos en el gen *TIMP3*, no incluyeran pacientes diagnosticados de DMAE y que no incluyeran grupo control. Finalmente, también se excluyeron artículos que no estuvieran redactados en inglés o español.

### **5.3 DISEÑO**

Se realizó una revisión sistemática y un posterior meta-análisis de los estudios de casos y controles relacionados con el gen *TIMP3* en los diferentes tipos de DMAE.

### **5.4 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA**

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Pubmed/MedLine, Embase, Scopus y Web of Science para identificar todos los estudios de casos y controles realizados hasta el momento. Se seleccionaron los que evaluaban la influencia de ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* en el desarrollo de la DMAE que cumplieran los criterios de inclusión. Se emplearon los siguientes términos de búsqueda: “((“ADM” OR “age-related macular degeneration”) AND “TIMP3” AND (“mutations” OR “variants” OR “polymorphisms”))”. Para minimizar el riesgo de sesgo no hubo restricciones en el tamaño muestral analizado.

## **5.5 ESTRATEGIA DE SELECCIÓN**

Se seleccionaron todos los estudios de casos y controles que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión de la revisión definidos previamente, fueron evaluados independientemente por dos revisores (Diego Martínez Alonso y Luis García Onrubia). Para la selección final se requirió un consenso total entre los dos revisores. En caso de duda, se consultó al director del trabajo (Ricardo Usategui Martín).

## **5.6 OBTENCIÓN DE DATOS**

Los datos extraídos de la búsqueda incluyeron nombre de los autores, año de la publicación, etnia de los individuos incluidos, país del estudio, tipos de DMAE y controles sanos, información demográfica como la edad y sexo de los casos y controles estudiados, número de individuos portadores de polimorfismos en el gen *TIMP3* y el número de sujetos portadores del polimorfismo rs9621532.

Como resultado de la búsqueda y con el fin de analizar asociación estadística, se realizaron los siguientes grupos de individuos.

- Pacientes con DMAE.
- Pacientes con DMAE Húmeda (Neovascularización)
- Pacientes con DMAE Seca (Atrofia geográfica)
- Individuos sanos

## **5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizaron distintos meta-análisis comparando la distribución de polimorfismos en el gen *TIMP3* entre los grupos de individuos. Para que se pueda realizar un meta-análisis los datos deben proceder de 3 o más artículos. Con todo ello se realizaron los siguientes estudios.

1. Estudio de la influencia de ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* con el riesgo a padecer DMAE

a. Pacientes con DMAE vs. Sujetos sanos.

b. Pacientes con DMAE Húmeda vs. Sujetos sanos.

2. Estudio de la influencia de ser portador del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* con el riesgo a padecer DMAE

a. Pacientes con DMAE Seca vs. Sujetos sanos

b. Pacientes con DMAE Húmeda vs. Sujetos sanos

La relación estadística se estimó a partir del odd ratio (OR) con su intervalo de confianza (IC) al 95% para cada estudio. A partir de los datos tabulados se calcularon los OR y sus IC del 95% de cada estudio individual. Para combinar los resultados de los estudios individuales seleccionados, se empleó un modelo de efectos fijos (*fixed effects model*). Se consideró como resultado estadísticamente significativo la obtención de un p-valor < 0,05. El análisis de sensibilidad se llevó a cabo excluyendo los estudios uno a uno, para determinar si los resultados pueden verse sesgados por estudios con escasa calidad metodológica, o que no cumplan estrictamente los criterios de selección .

Para estimar y cuantificar la heterogeneidad entre los diferentes estudios se empleó el test estadístico Q de Cochran. La obtención de un valor de  $P < 0,10$  indicaba heterogeneidad estadísticamente significativa en los resultados. El test estadístico I<sup>2</sup> se empleó para estimar la inconsistencia en los meta-análisis realizados, representando el porcentaje de variabilidad entre los estudios debida a la heterogeneidad de los mismos y no al simple azar. De esta manera, los valores de I<sup>2</sup> comprendidos entre el 0 y el 25% indicaban no heterogeneidad, los valores entre el 25 y el 50%, el 50 y el 75% y el 75 y el 100% correspondían a grados moderados, altos y extremos de heterogeneidad, respectivamente (24).

Se utilizó el programa informático Review Manager (RevMan), versión 5.3 (Cochrane Collaboration) para realizar el meta-análisis.

## 6. RESULTADOS

Como se muestra en el diagrama de flujo de los trabajos incluidos en nuestro estudio (Figura 6), inicialmente se encontraron 60 artículos en las diferentes bases de datos utilizadas. Se descartaron 42 artículos porque no cumplían los criterios de inclusión. Además, se descartaron 9 artículos porque evaluaban la influencia de polimorfismos en el gen *TIMP3* en patologías retinianas diferentes. Se descartó otro artículo (25) cuyos datos ya se encontraban incluidos en un estudio posterior con mayor número de población para así evitar sesgos y no duplicar información. Finalizado el cribado de inclusión, quedaron 8 artículos (26–33), de los cuales uno de ellos (29) presenta 3 poblaciones diferentes pertenecientes a estudios pertenecientes a “National Eye Institute Clinical Center” (NEI), “Age-Related Eye Disease Study” (AREDS) y “Blue Mountains Eye Study” (BMES), por lo que en consecuencia se obtuvo 10 poblaciones que fueron incluidos en el meta-análisis de la influencia de ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* y el riesgo de padecer DMAE.

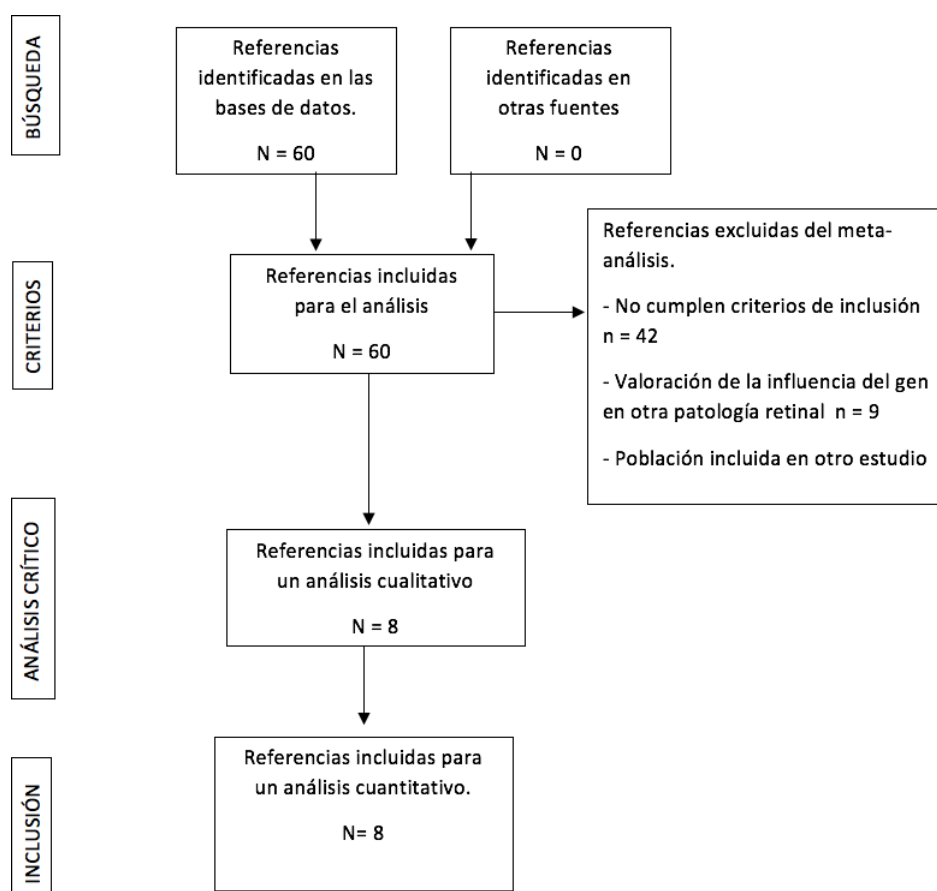


Figura 6. Diagrama de flujo de los trabajos incluidos en el meta-análisis

En la tabla 1 se recogen las características de los trabajos incluidos para la elaboración del meta-análisis. Finalmente se incluyeron 23555 individuos en el grupo con DMAE y 25329 individuos sanos en el grupo control.

Del total de los pacientes con DMAE 835 tenían DMAE Húmeda. La media de edad de los pacientes que han participado en los estudios fue de  $74,34 \pm 7,48$  años en el grupo de individuos con DMAE y de  $74,09 \pm 8,93$  años en el grupo control.

El número de mujeres incluidas en el meta-análisis fue de 2837, mientras que de hombres participaron 1931 individuos. No todos los estudios indican el sexo de los participantes (28,30,32,33).

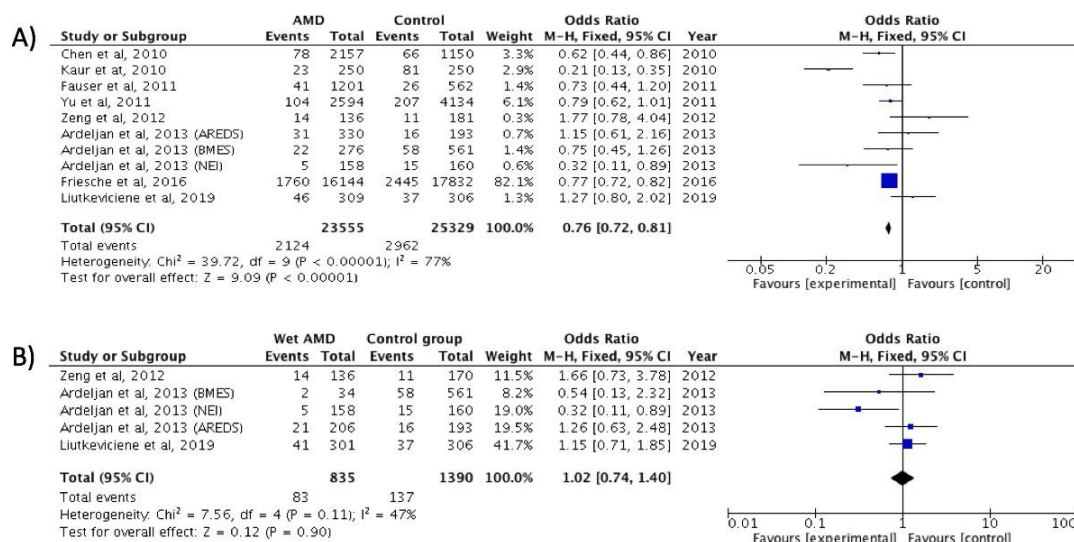
De los artículos seleccionados para estudiar el gen *TIMP3*, se incluyeron estudios de diferentes países; India (28), Estados Unidos (29,30), Alemania (27), China (26) y Lituania (31). Por otra parte, no todos los estudios reflejaban la etnia de los individuos incluidos, siendo mayoritario el número de individuos de ascendencia europea (27,30–32), seguida de la china (26) e hindú (28).

Para la realización del estudio genético del gen *TIMP3*, los estudios usaron DNA obtenido de las células mononucleares de sangre periférica. Del total de los pacientes con DMAE, 2124 eran portadores de polimorfismos en *TIMP3*, mientras que del grupo control 2962 eran portadores de polimorfismos *TIMP3*. Respecto al SNP rs9621532 de gen *TIMP3*, 336 presentaban esta alteración en el grupo con DMAE, mientras que en el grupo control lo presentaban 421 individuos.

**Tabla 1.** Características de los trabajos incluidos en el meta-análisis (DMAE: Degeneración macular asociada a la edad, N: número de individuos, NE: no especificado, SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido)

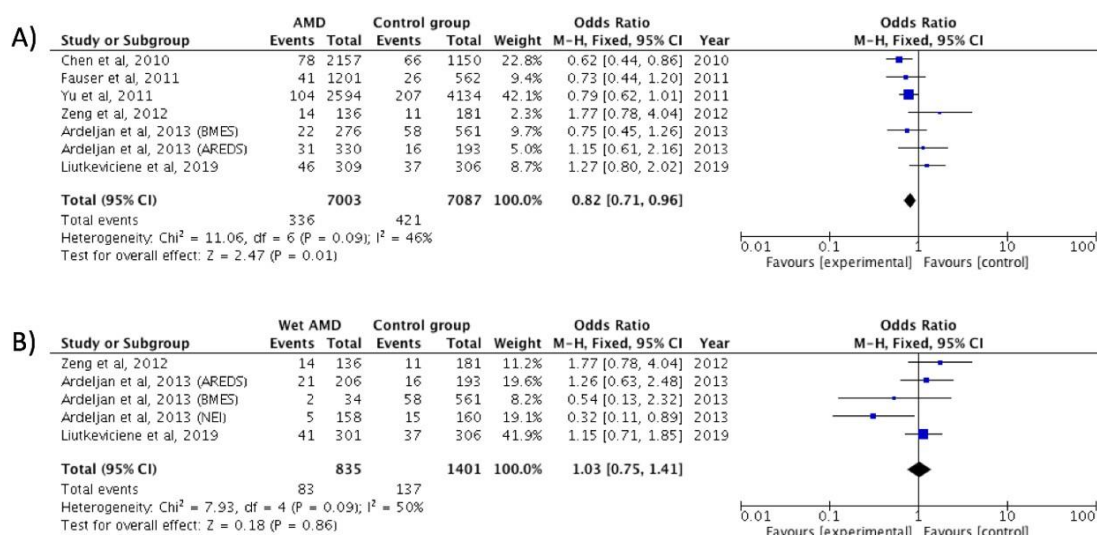
Autores, Año	Grupo de Individuos	País de origen	Etnia	Edad (media ± DE)	N	Sexo		SNPs en TIMP3		Portador del SNP rs9621532	
						Mujer	Varón	No	Si	No	Si
Kaur et al, 2010	DMAE	India	India	NE	250	250		227	23	NE	NE
	Control	India	India	NE	250	250		169	81	NE	NE
Ardeljan et al, 2013	DMAE (NEI)	US	NE	79 ± 8,1	237	126	111	NE	NE	NE	NE
	DMAE HUMEDA (NEI)	US	NE	NE	158	158		153	5	153	5
	Control (NEI)	US	NE	73,9 ± 10,8	160	92	68	145	15	145	15
	DMAE (BMES)	Australia	NE	75,3 ± 7,6	276	172	112	254	22	254	22
	DMAE HUMEDA (BMES)	Australia	NE	NE	34	34		32	2	32	2
	Control (BMES)	Australia	NE	75,1 ± 7,4	561	344	224	503	58	503	58
	DMAE (AREDS)	US	NE	79,2 ± 5,1	330	195	135	299	31	299	31
	DMAE HUMEDA (AREDS)	US	NE	NE	206	206		185	21	185	21
	Control (AREDS)	US	NE	76,8 ± 4,3	193	105	88	177	16	177	16
Chen et al, 2010	DMAE (datos propios)	NE	NE	NE	2157	2157		2079	78	2079	78
	Control (datos propios)	NE	NE	NE	1150	1150		1084	66	1084	66
Fauser et al, 2011	DMAE	Alemania	DUTCH/GERMAN	72,7 ± 6,6	1201	745	456	1160	41	1160	41
	Control	Alemania	DUTCH/GERMAN	75,8 ± 8,1	562	316	246	536	26	536	26
Zeng et al, 2012	DMAE HUMEDA	China	Chinese Han	67 ± 9,2	136	50	86	122	14	122	14
	Control	China	Chinese Han	68 ± 9,18	181	69	112	170	11	170	11
Yu et al, 2011	DMAE	NE	Europea	NE	2594	2594		2490	104	2490	104
	Control	NE	Europea	NE	4134	4134		3927	207	3927	207
Liutkeviciene et al, 2019	DMAE	Lituania	Lituania	73 ± 12	309	217	92	263	46	263	46
	DMAE HUMEDA	Lituania	Lituania	76 ± 11	301	195	106	260	41	260	41
	Control	Lituania	Lituania	71 ± 15	306	211	95	269	37	269	37
Friesche et al, 2016	DMAE	US	Europea	NE	16144	16144		14384	1760	NE	NE
	Control	US	Europea	NE	17832	17832		15387	2445	NE	NE

El estudio de la relación entre padecer DMAE y ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* se muestra en la Figura 7. En este meta-análisis se incluyeron 23555 pacientes con DMAE y 25329 sujetos sanos. Los resultados mostraron que ser portador de variantes polimórficas en el gen *TIMP3* se asocia con un menor riesgo de padecer DMAE ( $P < 0,001$ ;  $OR = 0,76$ ;  $IC(95\%) = 0,72-0,81$ ) (Figura 7A). Por otra parte, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el estudio del riesgo asociado a desarrollar DMAE húmeda y el ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* ( $P = 0,90$ ;  $OR = 1,02$ ;  $IC(95\%) = 0,74-1,40$ ) (Figura 7B).



**Figura 7.** Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* entre pacientes con DMAE y sujetos sanos (A) y entre pacientes con DMAE húmeda e individuos sanos (B).

Por otra parte, también se estudió el riesgo de sufrir DMAE asociado al ser portador del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3*. Se incluyeron 7003 pacientes subgrupo DMAE y 7087 sujetos sanos. Los resultados mostraron que ser portador del alelo variante del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* se asoció con una menor probabilidad de padecer DMAE ( $P=0,001$ ;  $OR=0,82$ ;  $IC(95\%)=0,71-0,96$ ) (Figura 8A). Nuestros resultados también mostraron que el polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* no se asoció estadísticamente con el riesgo de padecer DMAE húmeda ( $P=0,86$ ;  $OR=1,03$ ;  $IC(95\%)=0,75-1,41$ ) (Figura 8B).

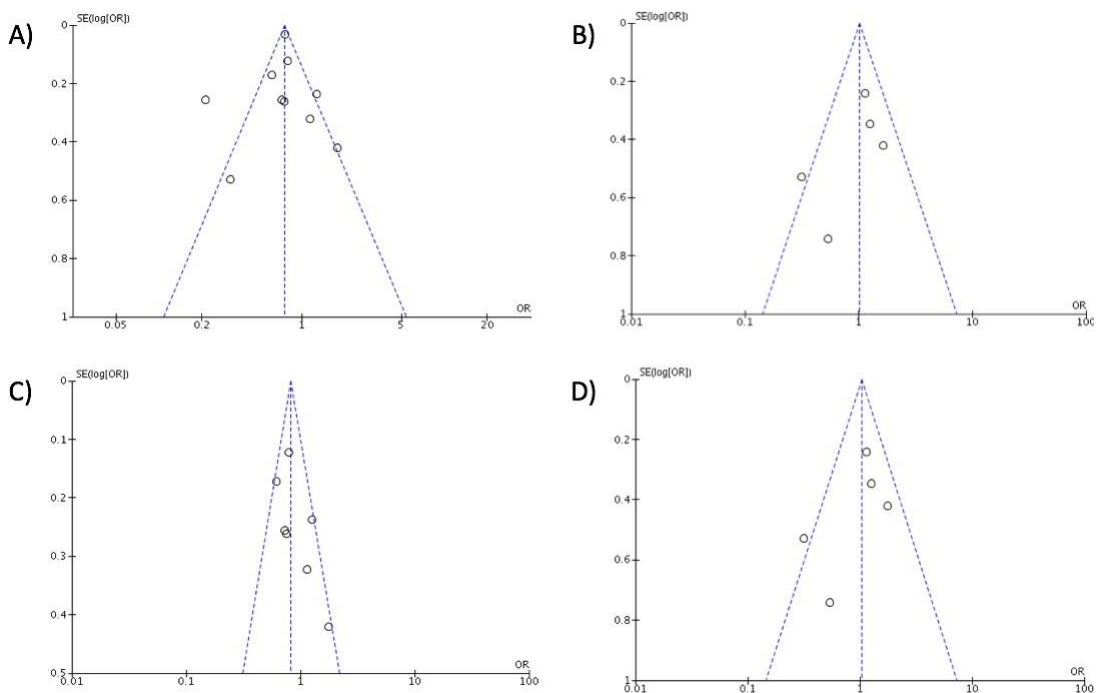


**Figura 8.** Forest plot resultante de la comparativa de la prevalencia del alelo variante del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* entre pacientes con DMAE y sujetos sanos (A) y entre pacientes con DMAE húmeda e individuos sanos (B).

El estudio de sensibilidad no modificó los resultados anteriormente expuestos, por lo cual, tanto en dirección como en magnitud del efecto y significación estadística indica que el análisis es robusto. No se pudo realizar el estudio en función de la etnia y la edad de los pacientes pues varios trabajos no especificaban dicha información (Tabla 1).



Mediante la visualización de los diagramas de Begger se analizó el sesgo de publicación de los trabajos incluidos en nuestro meta-análisis (Figura 9), todos ellos mostraron una distribución simétrica. Cuando el número de trabajos incluidos en el meta-análisis es inferior a diez no es necesario realizar el estudio de sesgo ya que se entiende que las diferencias son apreciadas; sin embargo, hemos realizado el análisis de sesgo en las cuatro comparaciones que llevadas a cabo.



**Figura 9.** Diagramas de Begger de los estudios incluidos en el meta-análisis de la influencia de polimorfismos en el gen *TIMP3* entre pacientes con DMAE y sujetos sanos (A), entre pacientes con DMAE húmeda e individuos sanos (B), entre pacientes con DMAE y controles para el estudio del SNP rs9621532 del gen *TIMP3* (C) y entre pacientes con DMAE húmeda y controles para el estudio del SNP rs9621532 del gen *TIMP3* (D).

## **7. DISCUSIÓN**

La DMAE es una patología que consiste en un proceso degenerativo que afecta a la mácula en la zona de fotorreceptores, el epitelio pigmentario, la membrana de Bruch y la coriocapilar y se asocia con la pérdida de agudeza visual por la aparición de drusas, atrofia del epitelio o por neovascularización coroidea (1).

Desde el punto de vista etiológico se desconoce exactamente los factores de riesgo que lo produce, siendo la principal causa el envejecimiento. Sin embargo, los factores genéticos influyen de manera determinante. Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) tienen un importante papel en la investigación de la DMAE para conocer los factores de riesgo genéticos (34).

Se han encontrado más de 860 genes asociados con la DMAE, además se han identificado numerosos genes de la vía de los lípidos (*ABCA1*, *ABCA7*, *APOC2*, *PLTP*, *VTN* y *MMP9*). El gen *MMP9* está asociado con la DMAE húmeda, siendo el primer gen que se asocia con un subtipo de DMAE (35).

Se conocen tres genes con función específica en la retina que tienen relación con el desarrollo de la DMAE. El gen *ABCA4* únicamente tiene función en la retina, mientras que los genes *APOE* y *TIMP3* tienen otras funciones adicionales. Además, los niveles elevados de la proteína *TIMP3* están asociados con el engrosamiento de la Membrana de Bruch y posterior atrofia del EPR. (15)

El epitelio pigmentario controla la síntesis de colágeno para la membrana de Bruch y participa en la regulación de las MMP. El proceso MMP/TIMP mantiene la integridad de la membrana de Bruch, por lo tanto, al igual que una alteración de las MMP, si se produce una alteración de las TIMP este equilibrio se podría ver afectado alterándose la estructura de la membrana (23).

Aunque existen diversos estudios que han analizado la influencia de las mutaciones en el gen *TIMP3* en la prevalencia de la DMAE, no existe una certeza clara de si tener mutaciones en el gen *TIMP3* altera el riesgo a padecer DMAE. Es por esto que el objetivo de nuestro trabajo ha sido la realización de una revisión sistemática y un meta-análisis que evalúe la relación entre el tener polimorfismos en el gen *TIMP3* y el riesgo de padecer DMAE.

Respecto a la presencia del polimorfismo rs9621532 los estudios seleccionados presentaban resultados contradictorios. Tres de ellos no encontraron asociación entre presentar dicho polimorfismo del gen *TIMP3* y desarrollar DMAE (26,27,31), mientras que tres informaron que presentar el polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* se asoció con una disminución del riesgo de DMAE (29,32,33).

Nuestro trabajo estudió 23555 pacientes con DMAE y 25329 individuos sanos. Del total de los pacientes con DMAE, 835 presentaban DMAE Húmeda.

Los resultados mostraron que ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* se asoció con un efecto protector frente al desarrollo de DMAE. Por otra parte, nuestro meta-análisis no encontró resultados estadísticamente significativos que ser portador de mutaciones en el gen *TIMP3* se asocie con el riesgo a padecer DMAE húmeda.

En el análisis de los pacientes que presentaban el SNP rs9621532 del gen *TIMP3* el cual se llevó a cabo en 7003 individuos del grupo con DMAE y 7087 individuos en el grupo control se observó diferencias estadísticamente significativas en el que presentar el SNP actuaba como factor protector frente a padecer DMAE.

Sin embargo, nuestro meta-análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en el análisis de los grupos con DMAE húmeda e individuos sanos con SNP rs9621532.

Chen et al (33) sugirieron que presentar polimorfismos en el gen *TIMP3* podría aumentar la susceptibilidad de padecer DMAE, mientras que los demás estudios realizados por los demás autores en años posteriores asociaron presentar el polimorfismo en el gen *TIMP3* a un menor riesgo de padecer DMAE.

Probablemente, las variantes en el gen *TIMP3* causen una funcionalidad anómala de la proteína lo cual podría asociarse con alteraciones fisiológicas provocando una variación en el mantenimiento de la membrana de Bruch y por ello disminuyendo de la susceptibilidad a sufrir la DMAE.

El conocer qué polimorfismos del gen *TIMP3* se asocian con un mayor o menor riesgo de desarrollar DMAE es de vital importancia a la hora del diagnóstico precoz de la enfermedad para así intentar prevenir la mayor sintomatología posible. En los casos familiares, también de vital importancia pues nos permitirán llevar acciones de consejo genético encaminadas a la prevención en los familiares de los pacientes. Además, nuestro estudio establece las bases para investigaciones futuras para explicar los mecanismos moleculares por los cuales en gen *TIMP3* puede encontrarse involucrado en el desarrollo de la DMAE, siendo el apoyo para desarrollar nuevas terapias.

La principal limitación de nuestro trabajo es que no se ha podido realizar un estudio de la influencia de ser portador de mutaciones en el gen *TIMP3* en el desarrollo de la DMAE estratificándolo por la etnia o sexo de los diferentes pacientes y controles. Otra limitación es que solo se han podido estudiar la DMAE y DMAE húmeda, ya que no había artículos publicados suficientes para el análisis de la DMAE seca. Sin embargo, la principal fortaleza de este trabajo

radica en el alto número de pacientes con DMAE y controles estudiados y la heterogeneidad de los mismos por su procedencia.

Para aclarar el papel del polimorfismo rs9621532 del gen *TIMP3* en la DMAE, sería necesario realizar futuros estudios in vitro e in vivo para determinar la posible relación entre los polimorfismo y fisiopatología de la DMAE.

## **8. CONCLUSIÓN**

Los resultados de este meta-análisis muestran que ser portador de polimorfismos en el gen *TIMP3* se asoció con un menor riesgo de padecer DMAE, además presentar el SNP rs9621532 del gen *TIMP3* también se asoció como factor protector frente a padecer DMAE. Estos resultados confirman la implicación de dicho gen en la etiología de la enfermedad.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. Ruiz Moreno JM, Arias-Barquet L, Armadá-Maresca F, A B-E. Guidelines of clinical practice of the serv: treatment of exudative age-related macular degeneration (AMD). ARCH SOC ESP OFTALMOL. 2009;84:333-44.
2. Ling Wong W, Su X, Li X, Ming Cheung CG, Klein R, Cheng C-Y, et al. Articles Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. 2014 [citado 12 de enero de 2021]; Disponible en: [www.thelancet.com/](http://www.thelancet.com/)
3. Moreno JMR, Cabrera López F, Layana AG, García J, Luis A, Barquet A. Protocolo de diagnóstico, seguimiento y recomendaciones generales en la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) precoz e intermedia: consenso de un panel de expertos.
4. Piñero R, Lora M, Andrés MI. Degeneración macular asociada a la edad. Tratamiento. [Internet]. [citado 12 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-X0212047X09453530>
5. Quiroz Reyes MÁ. La mácula y su patología | Oftalmología en la práctica de la medicina general, 4e | AccessMedicina | McGraw-Hill Medical [Internet]. [citado 26 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1498&sectionid=99962532>
6. Piñero R, Lora M, Andrés MI. Degeneración macular asociada a la edad. Tratamiento. [Internet]. [citado 11 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-X0212047X09453530>
7. García-Layana A, Cabrera-López F, García-Arumí J, Arias-Barquet L, Ruiz-Moreno JM. Early and intermediate age-related macular degeneration: Update and clinical review. Clin Interv Aging [Internet]. 3 de octubre de 2017 [citado 27 de mayo de 2021];12:1579-87. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29042759/>

8. Aragón S. Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) y calidad de visión [Internet]. Dialnet. 2017 [citado 31 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7666369>
9. Figueroa S, Medina L. Indicaciones actuales de la angiografía fluoresceínica [Internet]. 2004. 2004 [citado 27 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://sociedadoftalmologiademadrid.com/revistas/revista-2004/m2004-08.htm>
10. Bhutto I, Luttly G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): Relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex [Internet]. Vol. 33, Molecular Aspects of Medicine. Mol Aspects Med; 2012 [citado 27 de mayo de 2021]. p. 295-317. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22542780/>
11. S. Fineman M, C. Ho Allen. Color Atlas and Synopsis of Clinical Ophthalmology Wills Eye Institute Retina. 2nd edition. Lippincott Williams and Wilkins;
12. Chávez Pardo I, González Varona D. Degeneración macular relacionada con la edad [Internet]. 2008 [citado 27 de mayo de 2021]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552008000200016](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552008000200016)
13. Carretero Colomer M. Degeneración macular asociada a la edad [Internet]. [citado 11 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13096636>
14. Verdaguert J. Degeneración macular relacionada a la edad [Internet]. [citado 11 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864010706209>
15. Lambert NG, ElShelmani H, Singh MK, Mansergh FC, Wride MA, Padilla M, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration [Internet]. Vol. 54, Progress in Retinal and Eye Research. Elsevier Ltd;



- 2016 [citado 27 de mayo de 2021]. p. 64-102. Disponible en: [/pmc/articles/PMC4992630/](#)
16. Waugh N, Loveman E, Colquitt J, Royle P, Yeong JL, Hoad G, et al. Introduction to age-related macular degeneration. 2018 [citado 29 de mayo de 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500483/>
  17. Sagnières H. DMAE: Protocolo clínica, prevención y perspectivas. *Points vue*. septiembre de 2014;71.
  18. Ruiz Moreno JM. Tratamiento de la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) Exudativa y Atrófica [Internet]. Sociedad Española de Retina y Vítreo; 2014 [citado 27 de mayo de 2021]. Disponible en: [www.serv.es](http://www.serv.es)
  19. Swaroop A, Chew EY, Rickman CB, Abecasis GR. Unraveling a Multifactorial Late-Onset Disease: From Genetic Susceptibility to Disease Mechanisms for Age-Related Macular Degeneration. 2009;
  20. Orphanet: Distrofia pseudoinflamatoria de Sorsby del fondo de ojo [Internet]. [citado 14 de enero de 2021]. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Ing=ES&Expert=59181](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=ES&Expert=59181)
  21. Coronato S, Laguens G, Di Girolamo V. Rol de las metaloproteasas y sus inhibidores en patología tumoral. [Internet]. Buenos Aires; 2012 ago [citado 27 de mayo de 2021]. Report No.: 72. Disponible en: <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol72-12/6/495-502-MED5-15.pdf>
  22. Guo L, Hussain A, Limb A, Marshall J. Age-Dependent Variation in Metalloproteinase Activity of Isolated Human Bruch's Membrane and Choroid | IOVS | ARVO Journals [Internet]. [citado 14 de enero de 2021]. Disponible en: <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2199779>
  23. García-Onrubia L, Valentín-Bravo FJ, Coco-Martin RM, González-Sarmiento R, Pastor JC, Usategui-Martín R, et al. Matrix metalloproteinases in age-related macular degeneration (Amd) [Internet]. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020 [citado 27 de mayo de 2021]. p. 1-32. Disponible en:

/pmc/articles/PMC7460693/

24. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses [Internet]. Vol. 327, British Medical Journal. BMJ Publishing Group; 2003 [citado 27 de mayo de 2021]. p. 557-60. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958120/>
25. Neale BM, Fagerness J, Reynolds R, Sobrin L, Parker M, Raychaudhuri S, et al. Genome-wide association study of advanced age-related macular degeneration identifies a role of the hepatic lipase gene (LIPC). Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 20 de abril de 2010 [citado 8 de febrero de 2021];107(16):7395-400. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20385826/>
26. Zeng R, Wen F, Zhang X, Zuo C, Li M, Chen H, et al. An rs9621532 variant near the TIMP3 gene is not associated with neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in a Chinese Han population. Ophthalmic Genet [Internet]. septiembre de 2012 [citado 27 de mayo de 2021];33(3):139-43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22171703/>
27. Fauser S, Smailhodzic D, Caramoy A, van de Ven JPH, Kirchhof B, Hoyng CB, et al. Evaluation of serum lipid concentrations and genetic variants at high-density lipoprotein metabolism loci and TIMP3 in age-related macular degeneration. Investig Ophthalmol Vis Sci. 1 de julio de 2011;52(8):5525-8.
28. Kaur I, Rathi S, Chakrabarti S. Variations in TIMP3 are associated with age-related macular degeneration [Internet]. Vol. 107, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. National Academy of Sciences; 2010 [citado 27 de mayo de 2021]. p. E112-3. Disponible en: [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1007476107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1007476107)
29. Ardeljan D, Meyerle CB, Agron E, Wang JJ, Mitchell P, Chew EY, et al. Influence of TIMP3 and SYN3 polymorphisms on the phenotypic presentation of age-related macular degeneration. Eur J Hum Genet [Internet]. 2013 [citado 7 de abril de 2021];21:1152-7. Disponible en:

<http://snpinfo.niehs.nih.gov/snpfunc.htm>

30. Fritsche LG, Igl W, Bailey JNC, Grassmann F, Sengupta S, Bragg-Gresham JL, et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat Genet* [Internet]. 1 de febrero de 2016 [citado 8 de febrero de 2021];48(2):134-43. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/ng.3448>
31. Liutkeviciene R, Vilkeviciute A, Gedvilaite G, Kaikaryte K, Kriauciuniene L. Haplotypes of HTRA1 rs1120638, TIMP3 rs9621532, VEGFA rs833068, CFI rs10033900, ERCC6 rs3793784, and KCTD10 rs56209061 Gene Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration. *Dis Markers*. 2019;2019.
32. Yu Y, Bhangale TR, Fagerness J, Ripke S, Thorleifsson G, Tan PL, et al. Common variants near FRK/COL10A1 and VEGFA are associated with advanced age-related macular degeneration. *Johannes R Vingerling*. 25(18):3699-709.
33. Wei Chen et al. Genetic variants near TIMP3 and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration. 20 de abril de 2010;107:7401-6.
34. Seddon JM, Cote J, Page WF, Aggen SH, Neale MC. The US twin study of age-related macular degeneration: Relative roles of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol* [Internet]. marzo de 2005 [citado 28 de mayo de 2021];123(3):321-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15767473/>
35. Pennington KL, DeAngelis MM. Epidemiology of age-related macular degeneration (AMD): associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors. *Eye Vis* [Internet]. diciembre de 2016 [citado 27 de mayo de 2021];3(1). Disponible en: </pmc/articles/PMC5178091/>