

PAPEL DE LOS MICRORNA<sub>s</sub>  
EN LA ANGIOGÉNESIS  
ASOCIADA A LA  
RETINOPATÍA DIABÉTICA.  
UNA REVISIÓN  
SISTEMÁTICA

---

TRABAJO FINAL DE GRADO

6º curso de medicina

**Guillermo Juan Sanz Álvarez**

**TUTORA: María Muriach Sauri**





## TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA

**EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A** hace constar su **VISTO BUENO** para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y **CERTIFICA** que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

**TÍTULO del TFG:** PAPEL DE LOS MICRORNAs EN LA ANGIOGÉNESIS ASOCIADA A LA RETINOPATÍA DIABÉTICA. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

**ALUMNO/A:** Guillermo Juan Sanz Álvarez

**DNI:** 26751710-L

**PROFESOR/A TUTOR/A:** María Muriach Saurí

MARIA EDDA  
MURIACH|  
SAURI

Firmado  
digitalmente por  
MARIA EDDA|  
MURIACH|SAURI  
Fecha: 2022.05.20  
08:27:54 +02'00'

Fdo (Tutor/a): .....

**COTUTOR/A INTERNO/A (Sólo en casos en que el/la Tutor/a no sea profesor/a de la Titulación de Medicina):** Pablo Baliño Remiro

Fdo (CoTutor/a interno): .....

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, por apoyarme siempre en las decisiones que he tomado así como darme ánimos cuando los necesitaba.

A mi hermano, siempre al lado mío.

A Gema, por la paciencia y por ser el hombro donde apoyarme en los momentos duros.

A mis amigos, por estar cuando tenían que estar.

A mis yayos. Espero que desde ahí arriba estéis orgullosos de vuestro nieto.

A mi tutora, por la amabilidad y el tiempo dedicado en este trabajo.

# ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>8</b>
<b>2. ABSTRACT</b> .....	<b>9</b>
<b>3. EXTENDED SUMMARY</b> .....	<b>10</b>
<b>4. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>12</b>
4.1. MICRORNAS .....	12
4.2. ANGIOGÉNESIS Y NEOVASCULARIZACIÓN .....	13
4.3. RETINOPATÍA DIABÉTICA.....	14
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>18</b>
<b>6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	<b>19</b>
<b>7. MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
7.1. CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD DE ESTUDIOS .....	20
7.2. FUENTES DE INFORMACIÓN .....	20
7.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA .....	21
7.4. SELECCIÓN DE ESTUDIOS .....	21
7.5. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE DATOS.....	22
7.6. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE SESGO .....	23
7.7. MEDIDAS DEL EFECTO Y DE ASOCIACIÓN .....	24
<b>8. RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
8.1. SELECCIÓN DE ESTUDIOS .....	24
8.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS.....	27
8.3. RIESGO DE SESGO DE LOS ESTUDIOS .....	32
8.4. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS .....	33
<b>9. DISCUSIÓN</b> .....	<b>41</b>
9.1. LIMITACIONES .....	44
<b>10. CONCLUSIONES</b> .....	<b>45</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>46</b>
<b>12. ANEXO</b> .....	<b>50</b>

## **ABREVIATURAS**

ADA: American Diabetes Association

AGE: glucosilación no enzimática

AMI: Agujero Macular Idiopático

Ang II: Angiotensina II

ANG: Alto Nivel de Glucosa

AUC: Area Under Curve

BNG: Bajo Nivel de Glucosa

CEHVU: Células Endoteliales Humanas derivadas de la Vena Umbilical

CEMRH: Células Endoteliales Microvasculares de Retina Humana

CERH: Células Endoteliales de la Retina Humana

CT: Colesterol Total

DE: Desviación Estándar

DM: Diabetes Mellitus

DMAE: Degeneración Macular Relacionada con la Edad

FC: Factores de Crecimiento

FO: Fondo de Ojo

GC: Grupo Control

HIF-1: factor inducible por hipoxia-1

IC: Intervalo de confianza

IMC: Índice de Masa Corporal

MMP: metalproteinasas de matriz

NADPH: Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato

NRD: No Retinopatía Diabética

NRP-1: Neuropilina-1

OR: Odds ratio

PDGF: factores de crecimiento derivados de las plaquetas

PIGF: factor de crecimiento placentario

PMA: Phorbol 12-myristate 13-acetate

RD: Retinopatía Diabética

RDNP: Retinopatía Diabética No Proliferativa

RDP: Retinopatía diabética proliferativa

ROS: Reactive Oxygen Species

SEO: Sociedad Española de Oftalmología.

SERV: Sociedad Española de Retina y Vítreo

TA: Tensión Arterial

TG: Triglicéridos

TSP-1: Trombospondina 1

UFC-CEP: Unidades Formadoras de Colonias-Células endoteliales progenitoras

VEGF: Vascular Endotelial Grown Factor

# **1. RESUMEN**

Antecedentes: La retinopatía diabética es una grave complicación de la diabetes mellitus que puede causar ceguera irreversible. Esta ceguera se produce por la progresiva formación de nuevos vasos sanguíneos retinianos, los cuales se generan por la liberación de factores de crecimiento angiogénico como es VEGF. La expresión de estos factores podría estar relacionada con los niveles de microRNAs, que se encargan de la regulación postranscripcional de la expresión de proteínas.

Objetivos: Determinar el papel de los microRNAs en la angiogénesis asociada a la retinopatía diabética, así como su posible utilidad como biomarcadores y/o diana terapéutica

Métodos: La búsqueda se realizó en PubMed, Scopus, Cochrane, Web Of Science y Google Scholar. Debían ser estudios en humanos con retinopatía diabética donde se midieran los niveles de microRNAs y un parámetro angiogénico en muestras de suero, humor vítreo o acuoso y compararlos con un grupo control. Se realizó una extracción de los datos más importantes. La evaluación de los sesgos se hizo con la checklist de “The Joanna Birgss Institut”.

Resultados: Un total de 16 artículos fueron seleccionados. En suero se obtuvieron resultados positivos correlacionando la desregulación de MicroRNAs y de factores angiogénicos, aunque hubo estudios con resultados discrepantes. En humor vítreo se sacaron resultados parecidos. Las curvas ROC mostraron que los niveles de microRNAs tienen validez diagnóstica en la retinopatía diabética. El riesgo de sesgo en general fue medio-bajo.

Conclusiones: Hay una cierta asociación entre la desregulación de los microRNAs y el proceso angiogénico de la retinopatía diabética, aunque no está claramente descrita. En el futuro, los niveles de MicroRNA podrían servir como biomarcador de la retinopatía diabética.

Palabras clave: MicroRNA, Retinopatía diabética, angiogénesis, VEGF, Diabetes Mellitus

## **2. ABSTRACT**

Background: Diabetic retinopathy is a serious complication of diabetes mellitus that can cause irreversible blindness. This blindness is produced by the progressive formation of new retinal blood vessels, which are generated by the release of angiogenic growth factors such as VEGF. The expression of these factors could be related to the levels of microRNAs, which are responsible for post-transcriptional regulation of protein expression.

Objectives: To determine the role of microRNAs in angiogenesis associated with diabetic retinopathy, as well as their possible use as biomarkers and/or therapeutic targets.

Methods: The search was performed in PubMed, Scopus, Cochrane, Web Of Science and Google Scholar. They had to be studies in humans with diabetic retinopathy where the levels of microRNAs and an angiogenic parameter were measured in serum, vitreous or aqueous humor samples and compared with a control group. An extraction of the most important data was carried out. The evaluation of biases was done with the checklist of “The Joanna Birgss Institut”.

Results: A total of 16 articles were selected. In serum, positive results were obtained correlating the deregulation of MicroRNAs and angiogenic factors, although there were studies with different results. Similar results were also obtained in vitreous humor. The ROC curves showed that the levels of microRNAs have diagnostic validity in diabetic retinopathy. The overall risk of bias was medium-low.

Conclusions: There is a certain association between the deregulation of microRNAs and the angiogenic process of diabetic retinopathy, although it has not been clearly described. In the future, MicroRNA levels could serve as a biomarker for diabetic retinopathy.

Keywords: MicroRNA, Diabetic Retinopathy, Angiogenesis, VEGF, Diabetes Mellitus

### **3. EXTENDED SUMMARY**

#### Background

Diabetic retinopathy is one of the most serious complications that occur due to poor glycemic control in diabetics. In the retina, damage is being increased from small microaneurysms to exudates or hemorrhages until the formation of new blood vessels. These aberrant neovessels produce a progressive loss of vision, being the leading cause of preventable blindness in the developed world.

Angiogenesis is the process of formation of new blood vessels due to the differentiation of new endothelial cells in response to cytokines or growth factors. One of the most important growth factors is VEGF, a glycoprotein whose receptors are on the surface of endothelial cells and allows, through a biochemical cascade, to promote angiogenesis.

The gene regulation of the post-transcriptional expression of proteins (such as VEGF) is regulated, in part, by non-coding DNA fragments called MicroRNAs. These MicroRNAs can be found in plasma, vitreous humor or urine. In vitro research has shown that, after binding to specific points of the messenger RNA, they can regulate cell survival or angiogenesis processes.

Consequently, the study of these MicroRNAs in diabetic patients could provide information on the angiogenic process that is associated with diabetic retinopathy.

#### Objectives

To describe the relationship between certain MicroRNAs and the angiogenic process associated with DR. To determine whether the levels of MicroRNAs in serum and/or vitreous humor can be useful as biomarkers and/or therapeutic targets for diabetic retinopathy.

#### Methods

The structure of the methodology of this review is marked by the PRISMA guide. For the search of the articles, the PubMed, Scopus, Cochrane, Web Of Science and Google Scholar databases were used. The following terms were introduced in them, among others: “diabetic retinopathy”, “microRNA”, “angiogenesis”, “VEGF”. A total of 159

articles were selected, firstly eliminating duplicates and screening according to the inclusion and exclusion criteria. Finally, the total number of studies that form the review is 16. An extraction of the most relevant data from each article was carried out. In addition, the risk of bias were analyzed using tables from “The Joanna Birgss Intitut” for case-control and cross-sectional studies.

### Results

Levels of microRNAs in serum showed differences between comparative groups. Significant increases in the levels of mir27b, 93, 122, 126, 210, 221, 223-3p, 320a and significant decreases in 15b, 23a, 27b, 122, 126, 132, 200b, 425-5p were described. On the other hand, significant differences were also observed when measuring angiogenic parameters (mainly VEGF). A correlation between microRNAs (mir-15b, 27b, 93, 126, 200b, 221) and serum VEGF levels was maked, being statistically significant. The same comparison in vitreous humor gave similar results but with fewer studies to corroborate it. Despite this, there are articles that provide different data about Mir-200b and 27b in serum. The results of the ROC curves indicate that the levels of MicroRNAs in serum or vitreous humor have the capacity to differentiate patients with diabetic retinopathy and without it, with optimal sensitivities and specificities. The risk of bias of the articles is medium-low, with 3 articles presenting a high risk.

### Conclusions

After analyzing the data described in the articles, a certain correlation is observed between the levels of microRNAs and the levels of angiogenic factors measured in serum and vitreous humor, but the level of evidence of the studies in this review makes it necessary to analyze the results with caution. More studies and more evidence would be needed to corroborate it. In addition, the number of patients that form the sample in the studies is not high, which also limits conclusions. The use of these levels as a biomarker of diabetic retinopathy could be used in the future.

## **4. INTRODUCCIÓN**

### **4.1. MICRORNAS**

Los microRNAs son moléculas que forman parte del DNA no codificante del genoma humano. La principal función de estas moléculas es la regulación postranscripcional de la expresión de proteínas a través de su unión a secuencias específicas de los RNA mensajeros diana. Diferentes estudios han demostrado que estos fragmentos tienen un papel relevante en procesos de supervivencia celular, angiogénesis e incluso en la respuesta inmunitaria. Este DNA no codificante se puede hallar en diferentes partes del cuerpo humano, como puede ser dentro de una célula, en el plasma, orina, humor vítreo o saliva en forma de microRNAs circulantes (1,2).

El proceso de regulación génica comienza con la transcripción de los MicroRNAs por la ARN polimerasa II/III en forma de microRNA primario. A través de la acción enzimática de “Drosha” y DGCR8/Pasha, entre otras, otorgan una forma de horquilla característica, creando el pre-microRNA. Este último puede ser exocitado fuera de la célula con la colaboración de la proteína Exportin-5. Por último, ya en el medio extracelular, otra enzima llamada “Dicer” se encarga de finalizar el proceso madurativo del microRNA para hacerlo funcionante, el cual, se unirá complementariamente al RNA mensajero diana con la ayuda del complejo RISC. La regulación de la expresión se lleva a cabo mediante los procesos de desadenilación o bien con la degradación directa del RNA a través de la generación de factores que lo desintegran. La secuencia complementaria entre el RNAm y el microRNA es de tan solo 7 nucleótidos, con lo que cada microRNA podría unirse a muchos RNAm diferentes. Del mismo modo, cada RNAm podría tener múltiples sitios de unión a microRNAs (1,2).

El descubrimiento de estos MicroRNAs en el año 1993 abrió la puerta a las diferentes líneas de investigación que hay actualmente. Estas pretenden determinar el papel de los microRNAs en, por ejemplo, determinados cánceres, diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas, etc. y así poder emplearlos como biomarcadores a nivel preventivo de la enfermedad o bien como diana terapéutica. A día de hoy se conocen más de 2000 secuencias de MicroRNAs, todas ellas recogidas en la base de datos “mirbase” (3,4).

#### 4.2. ANGIOGÉNESIS Y NEOVASCULARIZACIÓN

La angiogénesis es el proceso de formación de vasos sanguíneos a partir de los preexistentes. Es un proceso natural que ocurre a lo largo de la vida por diferentes razones ya sean fisiológicas, como sucede durante el desarrollo humano, o patológicas como en los tumores, en la cicatrización o en enfermedades oftalmológicas (5). Esta neoformación está bajo un control estricto donde intervienen citoquinas, factores de crecimiento (FC) y hormonas, ya que, tanto un exceso como un defecto en la formación vascular puede acarrear enfermedades graves (6).

Para la formación de nuevos vasos son esenciales las conexiones célula-célula y célula-matriz extracelular (MEC), las cuales son guiadas y dirigidas por factores de crecimiento. Este proceso comienza con la diferenciación de las células madre mesodérmicas en angioblastos, que migran hacia el lugar donde les dirigen los FC, como el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF), para finalmente formar "islas" de sangre y con ello, nuevas células endoteliales (CE) (5). Estudios in vitro demostraron la capacidad de proliferación de células endoteliales de la vena umbilical humana (CEHVU) cuando fueron expuestas a VEGF y a mutantes del mismo (7). Por otro lado, también existen factores que se oponen a esta neoformación de vasos como puede ser la Trombospondina-1 (TSP-1), que se interpone en la comunicación célula-célula comentada anteriormente (5).

VEGF es una glicoproteína que pertenece a la familia de factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF). Esta proteína es liberada por células tumorales, macrófagos, plaquetas, queratinocitos, entre otras, mediante la activación de determinadas enzimas como plasmina, metalproteinasas de matriz (MMP) o heparinasas, las cuales se activan durante el proceso de reparación tisular. Además, VEGF genera una retroalimentación positiva por la cual, una vez es activado, produce un aumento de las enzimas que vuelven a liberarlo (8-10). A pesar de que existen varios genes relacionados con la producción de VEGF como son VEGF-B o el factor de crecimiento placentario (PlGF), el de mayor importancia es VEGF-A debido a su papel clave en la regulación de la angiogénesis, tanto en la homeostasis como en la enfermedad (7).

Los efectos que genera VEGF vienen determinados por la unión a sus dos receptores: Flt-1 (VEGFR-1) y KDR (VEGFR-2). Estos se hallan en las superficies de las células endoteliales vasculares. Tras una cascada de reacciones químicas inducidas por el receptor tirosin quinasa transmembrana, empieza otra señalización intracelular con mediadores específicos (8,10). Otro correceptor de membrana es NRP-1 (Neuropilina 1), unido también a un receptor tirosin-kinasa, que tiene un papel versátil dentro de la angiogénesis, supervivencia y migración celular. NRP-1 interacciona tanto con VEGF como con la familia de las semaforinas, como SEMA6A, las cuales también desempeñan un rol de modulación del receptor VEGFR-2 (11).

Otro regulador angiogénico es la angiotensina II (Ang II). En investigaciones in vitro e in vivo se describió que juega un papel regulador en la neovascularización retiniana. Ang II podría potenciar las acciones proliferativas y migratorias de las CE inducidas por el aumento de VEGF a través de la NADPH oxidasa en las CE vasculares de la retina (12,13).

El conocimiento acerca del funcionamiento de VEGF aportó un nuevo campo de investigación, lo que dio como resultado la obtención de datos acerca de la gran potencia angiogénica (7). De hecho, existe en el mercado desde hace 15 años un anticuerpo monoclonal humanizado llamado “Bevacizumab” que actúa uniéndose a VEGF, impidiendo la neovascularización en patologías como el cáncer de mama, colon o recto metastásicos, glioblastoma, edema de mácula o retinopatía diabética proliferativa (14).

#### 4.3. RETINOPATÍA DIABÉTICA

La retinopatía diabética (RD) es la principal causa de ceguera prevenible en el mundo desarrollado en adultos entre 20 y 74 años, además de ser una de las complicaciones más frecuentes dentro de la diabetes. En el mundo hay unos 285 millones de diabéticos y se estima que uno de cada tres, acabarán padeciendo retinopatía diabética. Esta complicación de la diabetes puede pasar totalmente inadvertida sin ocasionar una pérdida de visión importante, lo que conlleva un retraso en el diagnóstico y tratamiento. Conforme va pasando el tiempo, el paciente puede referir la visión de hebras o manchas

oscuras (cuerpos flotantes), visión borrosa, alteraciones con los colores, etc. hasta que finalmente pierde la visión sin un tratamiento adecuado (15,16).

Dentro de la RD hay diferentes subtipos, tal y como describen la SERV (Sociedad Española de Retina y Vítreo) y la SEO (Sociedad Española de Oftalmología). Se trata de un proceso dinámico, por lo que el paciente puede ir avanzando en la clasificación. Esta clasificación sería la siguiente:

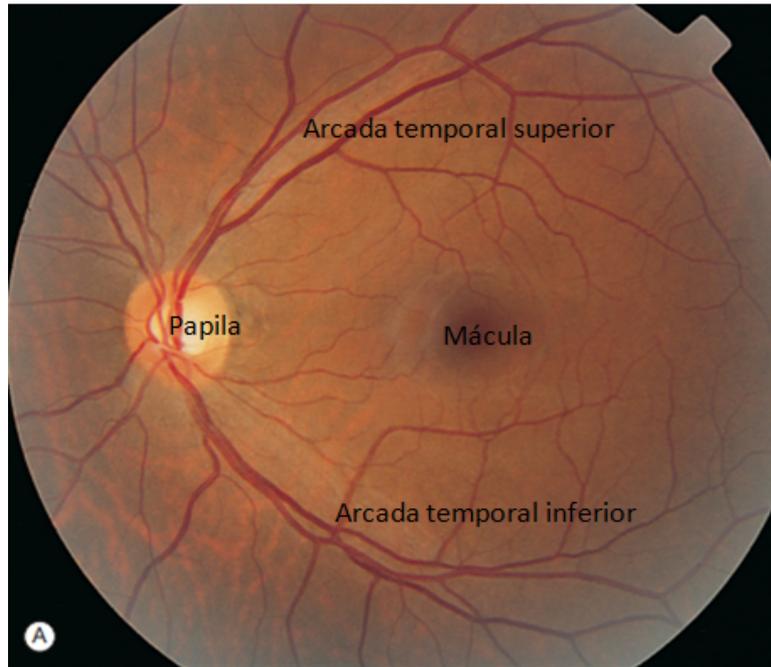
**Tabla 1.** Clasificación de la retinopatía diabética según la SERV. Adaptado de las “Guías de práctica clínica de la SERV” (17)

SUBTIPO	CARACTERÍSTICAS
<b>Sin retinopatía aparente</b>	No hay presencia de microaneurismas, pero puede haber hemorragias y exudados aislados
<b>Retinopatía no proliferativa leve</b>	Pueden haber microaneurismas con exudados blancos aislados y/o hemorragias retinianas en un solo cuadrante.
<b>Retinopatía no proliferativa moderada</b>	Microaneurismas junto con 1 de estos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; 20 hemorragias intrarretinianas en los 4 cuadrantes</li> <li>• Exudados duros</li> <li>• Exudados algodonosos</li> <li>• Bucle venoso en 1 cuadrante</li> </ul>
<b>Retinopatía no proliferativa grave</b>	Microaneurismas junto con 1: <ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt; 20 hemorragias intrarretinianas en los 4 cuadrantes</li> <li>• Bucles venosos en 2-3 cuadrantes</li> <li>• Anomalías microvasculares retinianas</li> </ul>
<b>Retinopatía no proliferativa muy grave</b>	Microaneurismas junto con dos características del bloque anterior.
<b>Retinopatía proliferativa</b>	Formación de neovasos y/o hemorragia prerretiniana o hemorragia en el vítreo. Exudados blandos, tortuosidad de neovasos, anomalías microvasculares intrarretinianas (AMIR).

La patogénesis de la RD viene originada por picos hiperglucémicos debido a un control deficiente de la glucemia. Unos niveles de glucosa elevados en sangre llevan a una mala regulación de rutas bioquímicas a nivel ocular, que en su último eslabón producen estrés oxidativo por liberación de radicales de oxígeno (ROS) en los tejidos retinianos (16). También se produce apoptosis a nivel mitocondrial y un proceso muy relevante en esta patología: la secreción anómala del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) generada por el estado hipóxico y proinflamatorio, que lleva consigo una apoptosis neuronal, la formación de vasos aberrantes y un estado de hiperpermeabilidad vascular como se ha comentado anteriormente. El exceso de permeabilidad es debido a la disfunción de la barrera hemato-retiniana (por muerte o mala función de los pericitos que envuelven a las células endoteliales) lo que genera un aumento de la salida de contenido hemático hacia la retina (generando un edema macular diabético), un estado de hipersensibilidad al factor VEGF y desestabilización de los vasos sanguíneos, permitiendo la neoformación aberrante de vasos retinianos. Estos vasos aberrantes junto con el estado proinflamatorio generará los microaneurismas (15,16). Se trata pues de un proceso de larga evolución, durante el cual van ocurriendo pequeños cambios a nivel de factores angiogénicos y proinflamatorios que finalmente derivarán en la retinopatía diabética proliferativa.

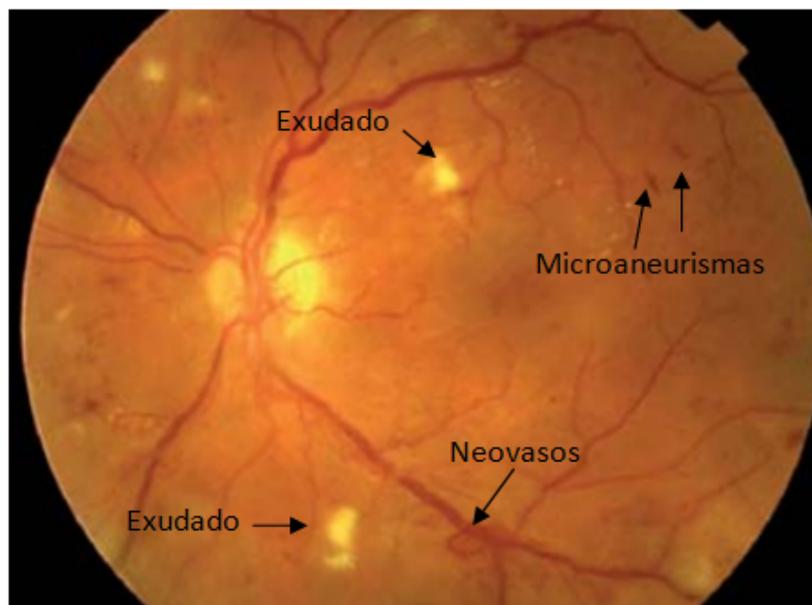
Con el fin de diagnosticar esta patología, es importante la realización de fondos de ojo de manera sistemática a los pacientes diagnosticados de diabetes mellitus. En un fondo de ojo (FO) se puede valorar la trama vascular, el nervio óptico y la retina. En la parte central de la retina se encuentra la mácula, la cual es responsable del 99% de la agudeza visual humana. Esta zona tiene la mayor concentración de conos (fotorreceptores responsables del color) de la retina. Si se daña esta zona (como ocurre en el edema de mácula) se pierde la visión central y la capacidad discriminativa.

En un FO normal se ve una imagen como la ilustración 1, quedando la papila (nervio óptico) en la zona nasal del paciente (la imagen correspondería a un ojo izquierdo) (18). En la imagen también se aprecian las arteriolas y vénulas que irrigan a la retina, siendo esto muy importante a la hora de caracterizar a los pacientes que padecen RD proliferativa por la neoformación de vasos (19,20).



**Ilustración 1:** *Imagen de un fondo de ojo normal adaptada (18)*

En la ilustración 2 quedan reflejadas algunas características del FO diabético que se han comentado en la tabla 1, como son los microaneurismas, exudados o la tortuosidad de los neovasos. Derivado de estas anomalías retinianas, la retinopatía puede acabar generando una serie de complicaciones, como son: hemorragias vítreas, glaucoma neovascular, edema macular y/o una isquemia retiniana.



**Ilustración 2.** *Fondo de ojo de un paciente con retinopatía diabética y algunas de sus características. Imagen adaptada de la SERV (17)*

Los estímulos que generan la expresión de VEGF en la retina son, por un lado, la hiperglucemia, ya que esta genera productos avanzados de la glucosilación no enzimática (AGE) y por otro lado, la hipoxia a través del factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1). Estas dos condiciones suelen estar presentes en los pacientes con DM, lo que explica en cierta medida la progresión hacia la RD. Además, los estudios inmunohistoquímicos realizados en estos pacientes han demostrado la elevación de los niveles de VEGF y de sus receptores en la retina (21).

El estudio de la patogenia de la RD permitió conocer cómo la pérdida de pericitos y capilares retinianos conduce a un estado isquémico-hipóxico con la consiguiente neovascularización aberrante encabezada principalmente por VEGF. Estos neovasos son turbulentos, anormales, tienen fugas y frecuentemente están mal localizados en el espacio prerretiniano, pudiendo llegar a causar desprendimiento de retina y ceguera (7).

En cuanto al tratamiento existen diferentes técnicas o fármacos para abordarlo: la fotocoagulación con láser, glucocorticoides, vitrectomía o fármacos anti-VEGF (Bevacizumab). A pesar de que con estos tratamientos se ha visto una mejoría clínica del paciente, ninguno ha demostrado una remisión completa de la enfermedad o revertir el daño producido (16).

El estudio de los MicroRNAs mediante la extracción de suero y/o humor vítreo podría ser una herramienta más para prevenir o adelantarse al proceso generativo de la RD. El silenciamiento génico de estos fragmentos de RNA puede abrir un nuevo campo en el tratamiento de esta enfermedad.

## **5. JUSTIFICACIÓN**

La retinopatía diabética es la causa de ceguera irreversible más frecuente en el mundo desarrollado. Por ello, sería interesante a nivel clínico tener nuevos fármacos que impidan tanto el desarrollo de la neovascularización como la progresión de la misma con unos marcadores precoces que permitan atajar el problema mucho antes de lo que lo podemos hacer en la actualidad. En estos momentos existe tratamiento con fármacos anti-VEGF o la fotocoagulación con láser, pero sería más relevante el hecho de poder

anticiparse. Los microRNAs están siendo estudiados en diversas patologías y se ha visto que pueden tener relación con el inicio de la cascada bioquímica que lleva a la formación de vasos sanguíneos nuevos. Poder esclarecer si realmente hay una relación podría generar un nuevo campo para la investigación con el fin de poner como diana terapéutica dichos MicroRNAs y alterar la historia natural de la enfermedad.

Al tratarse de un proceso que se inicia desde el momento en el que el páncreas no funciona correctamente, en esta revisión se incluirán estudios que tengan como muestra pacientes con DM sin RD hasta pacientes que tengan una RDP establecida, ya que a lo largo de la enfermedad van ocurriendo cambios inflamatorios y angiogénicos que serían interesantes conocer con el fin de anticiparse al problema.

Actualmente no hay un número importante de estudios en humanos que determinen dicha relación. Por ello, en esta revisión se pretende aglutinar la información actualizada sobre el tema y aportar datos sobre la calidad de los estudios que se han llevado a cabo hasta ahora. La finalidad es crear una revisión sistemática para que, sobre ella, se asienten estudios con un nivel de implicación clínica superior.

## **6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

- Objetivo Principal: Describir la relación entre la presencia de determinados MicroRNAs y el proceso angiogénico asociado a la RD.
- Objetivos específicos:
  - Determinar si los niveles de MicroRNAs en suero y/o humor vítreo pueden ser útiles como biomarcadores de la retinopatía diabética.
  - Determinar si los MicroRNAs pueden ser objetivo terapéutico para prevenir la retinopatía diabética o su progresión.
- Hipótesis: Los niveles de MicroRNAs en suero y/o humor vítreo pueden ser parámetros bioquímicos de diagnóstico, progresión o de empeoramiento de la angiogénesis en la retinopatía diabética, así como ser una nueva diana terapéutica.

## **7. MÉTODOS**

En este trabajo se va a tratar de identificar aquellos estudios relacionados con el tema con el fin de corroborar o no la hipótesis planteada anteriormente, así como los objetivos descritos. La realización de esta metodología se ha llevado a cabo conforme las guías PRISMA (anexo 1).

### **7.1. CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD DE ESTUDIOS**

**Tabla 2.** *Criterios de inclusión y de exclusión para la elegibilidad de los artículos*

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Estudios de libre acceso	Estudios realizados únicamente en animales
Idioma: inglés o español	Estudios llevados a cabo únicamente con células humanas, sin emplear suero o humor vítreo de pacientes con RD.
Estudios de cohortes, transversales, casos y controles, ensayos clínicos	Estudios de baja evidencia científica como estudios de opinión de expertos o investigación puramente teórica.
Dichos estudios pueden estar complementados con estudios in vitro	Meta-análisis y revisiones sistemáticas
Los estudios deben medir los niveles de MicroRNA en suero humano, humor vítreo o humor acuoso	
Estudios que tengan grupos comparativos	
Estudios en los que se empleen humanos y ratas, pero sacando conclusiones por separado.	
La muestra pueden ser pacientes con DM1 o DM2	

### **7.2. FUENTES DE INFORMACIÓN**

Para la búsqueda bibliográfica se han empleado las siguientes bases de datos: PubMed, Scopus, Cochrane, Web Of Science y Google Scholar.

### 7.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

En primer lugar, se realizó una búsqueda en Pubmed. Esta se hizo marcando que los conceptos descritos abajo estuvieran presentes en el título y/o abstract, junto con los operadores booleanos OR y AND entre ellos.

- “Diabetic Retinopathy” OR “Proliferative Diabetic Retinopathy”
- “Biomarker” OR “Relationship”
- “microRNA” OR “MiRNA” OR “MiR”
- “VEGF” OR “Angiogenesis” OR “angiogenic” OR “neovascularization” OR “Neovascular” OR “vascular”

En la base de datos “Scopus” se buscaron los mismos conceptos anteriormente nombrados presentes en el abstract o título.

En Cochrane la búsqueda fue más reducida por las características de la búsqueda avanzada. Se buscaron los conceptos indicados a continuación que estuvieran presentes en el título/resumen/palabras clave. Entre ellos, se utilizó el operador booleano AND:

- “diabetic retinopathy”
- “microRNA”
- “angiogenesis”

Otra base de datos fue Web Of Science. Se realizó una búsqueda donde los conceptos deberían estar presentes en el abstract y fueron los mismos que se han comentado en la búsqueda en PubMed.

Por último, se hizo una búsqueda también en Google Scholar, con los términos “MicroRNA”, “Angiogenesis” y “Diabetic Retinopathy”.

### 7.4. SELECCIÓN DE ESTUDIOS

Para la selección de los estudios para esta revisión sistemática, se empleó un cribado manual, empezando por eliminar aquellos artículos duplicados. Después se hizo la selección de los que, mediante la lectura de abstract y resumen, cumplieron con la

temática buscada, teniendo también en cuenta los criterios de inclusión y exclusión expuestos anteriormente. Finalmente, se volvió a hacer un cribado de aquellos artículos dudosos para llegar a una cantidad de artículos comprensible.

Por otro lado, a través de estos artículos encontrados, se hizo una búsqueda activa en la bibliografía de los mismos con el fin de obtener otros artículos que sean de interés.

## 7.5. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE DATOS

Para la extracción de datos de los artículos seleccionados, se ha diseñado una tabla con el fin de sacar aquella información relevante y simplificarla. Los datos que se extrajeron fueron:

- Autor/es, año y mes de publicación: nombre de los principales autores junto con el año y mes de publicación.
- Tipo de estudio: Según la tabla expuesta en el manual docente de la escuela Nacional de salud del instituto Carlos III (Anexo 2).
- Nivel de evidencia: Basándome en la tabla sobre el nivel de evidencia de Sign Gradin Systems (anexo 3). Los estudios catalogados como transversales se muestran con nivel de evidencia 3\* debido a que no aparecen en dicha tabla y por tanto, se les otorga un nivel de evidencia similar a un estudio no-analítico.
- Número de individuos: Especificando el número de individuos que pertenece a cada grupo de la investigación, separando el grupo control del resto de grupos.
- DM: Se especifica el tipo de DM que padecen las personas de la muestra a estudio.
- Muestra: Medio biológico que se obtiene de los individuos, ya sea humor vítreo, humor acuoso, suero o tejidos. En los estudios que tienen dos partes, una parte de “casos y controles” y otra de estudio “in vitro”, la muestra obtenida para el estudio “in vitro” serán células humanas obtenidas de bancos de células (se especificará para cada estudio, la procedencia de dichas células).

- MiRNA: Se expone el miRNA a estudio o bien, todos aquellos que vayan a ser investigados. En los estudios “in vitro” se especifica el tipo de mimético de MiRNA que se inyecta a las células para comprobar su relación con la angiogénesis o parámetro angiogénico a estudio.
- Parámetro angiogénico: este parámetro puede variar en los diferentes estudios. En la mayoría de ellos se mide “VEGF” pero en muchos de los estudios “in vitro” el parámetro medido es la proliferación de las células empleadas. En estos mismos estudios, que tienen dos partes, en el apartado de “casos y controles” no hay parámetro angiogénico, ya que se determina si un cierto MiRNA se desregula y luego se observa qué ocurre a nivel celular.
- Métodos: En este apartado se describe cómo se han obtenido las muestras, es decir, cómo se han obtenido los valores de miRNA y los del parámetro angiogénico.

#### 7.6. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE SESGO

Para la evaluación del riesgo de sesgo se han empleado dos tipos de tablas o checklist, ambas de "The Joanna Briggs Institute (JBI) critical appraisal checklist" (22), una para los estudios de casos y controles (anexo 4) y la otra para los estudios transversales analíticos (anexo 5). A través de los ítems que proponen cada una de las tablas, se buscó en los artículos si lo contenían o no. También cabía la posibilidad de que no estuviera específicamente expresado, por lo que se debía marcar “unclear”. Las tablas expuestas en los anexos se marcaron con colores dependiendo si cumplían los requisitos de la checklist: con color verde se marcó “yes” si se encontraba la respuesta a la pregunta de la tabla; en rojo “no” si no se encontraba; en naranja “unclear”, cuando el ítem expuesto era dudoso y finalmente en amarillo “not applicable” si no se podía aplicar un determinado ítem al artículo en estudio.

Principalmente se han evaluado los siguientes sesgos:

- Sesgo de selección: Diferencias entre las características iniciales de los grupos a estudio.

- Sesgo de clasificación de medida: las medidas tomadas para detectar tanto la exposición como la variable respuesta deben ser realizadas con los mismos procedimientos y aparatos de medida estándar.
- Sesgo por factor de confusión: características de algún grupo a estudio que distorsionen la asociación o la ausencia de ella frente a la variable respuesta. Para ello deberán contar con apareamiento por ese factor de confusión o bien haber hecho a posteriori un análisis estratificado o multivariante.

Por otro lado, en el anexo 6 está presente la tabla empleada para la evaluación del riesgo de sesgo de los estudios in vitro. Esta tabla modificada se extrajo de una revisión sistemática sobre el análisis de sesgo en este tipo de estudios (23). Se utilizó el mismo sistema de colores que para las tablas de los estudios observacionales.

## 7.7. MEDIDAS DEL EFECTO Y DE ASOCIACIÓN

Las medidas del efecto de los microRNAs en el parámetro angiogénico determinado medido en cada estudio, se debe determinar con tests estadísticos para la asociación entre variables como regresiones logísticas o lineales y a través de la correlación de Pearson o de Spearman. La mayoría de los estudios que componen esta revisión son estudios de casos y controles, por lo que algunos de ellos proporcionan la OR para ese determinado miRNA. Por último, también es interesante si se realizan curvas ROC con el fin de obtener datos del rendimiento diagnóstico de los MicroRNAs en la RD. Se tiene en cuenta que empleen intervalos de confianza del 95% con valores “p” que tengan significación estadística.

# 8. RESULTADOS

## 8.1. SELECCIÓN DE ESTUDIOS

La búsqueda en las 4 primeras bases de datos se realizó el 1 de marzo de 2022 y en Google Scholar el 22 de marzo de 2022. En total 159 artículos: 37 artículos en PubMed; 49 en Scopus; 1 en Cochrane; 30 en Web Of Science; 42 en Google Scholar.

Una vez descargados los listados de las diferentes bases de datos y las referencias de los artículos, se identificaron 65 artículos duplicados. De los 94 restantes, se hizo un primer cribado por el título y resumen, eliminando 72. En esta primera criba se tuvo en cuenta que el artículo tuviera relación con el tema; que no fuera un artículo basado en la investigación teórica; redactado en inglés/castellano y que no se utilizaran animales para sacar conclusiones. Pensando en la posibilidad de que, tras el cribado posterior, se eliminaran demasiados artículos, se volvió a buscar entre los artículos que habían sido cribados. Finalmente se mantuvieron dos estudios que fueron dudosos en un principio, pero tras leer el apartado de conclusiones dividían los resultados obtenidos para ambos grupos (humanos y ratas), por lo que se decidió incluirlos.

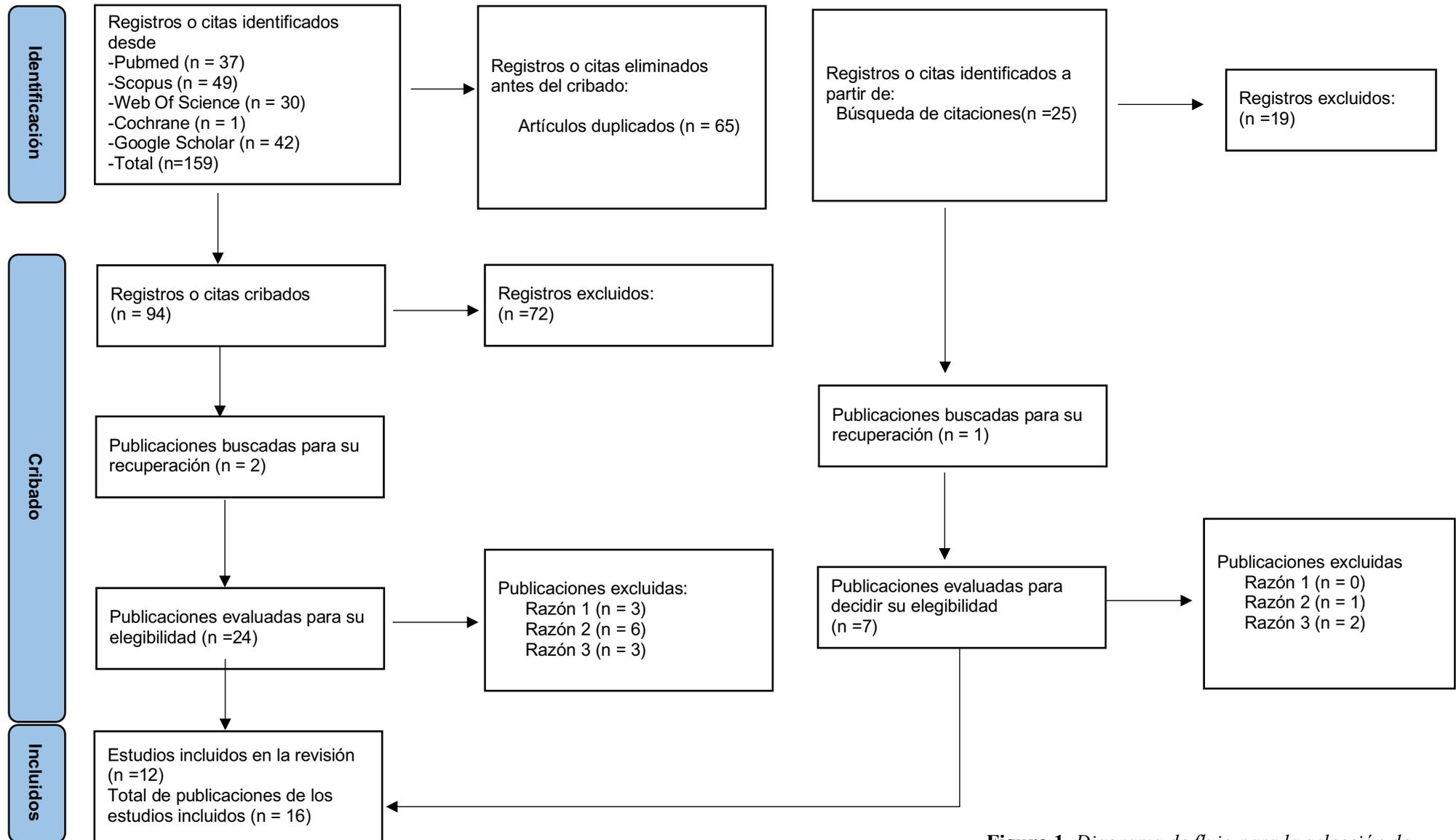
De los 24 artículos elegidos, 3 fueron excluidos por no tener libre acceso al documento completo (razón 1). De los restantes, se hizo una lectura rápida y se eliminaron otros 6 por utilizar animales (razón 2) (en algunos utilizaban tanto humanos como animales, pero las conclusiones eran mezcladas, por lo que se eliminaron finalmente). La razón 3 de exclusión corresponde a estudios realizados únicamente con células humanas procedentes de bancos biológicos, eliminando 3 artículos.

Por otro lado, se seleccionaron 25 artículos procedentes de la bibliografía encontrada. Tras el cribado mediante la lectura del título y resumen, quedaron 6 (eliminando 19). Se recuperó un artículo que, como ocurrió anteriormente, utilizaba humanos y ratas, pero las conclusiones eran por separado. De estos, finalmente se eliminó 1 por ser únicamente con animales y 2 por no usar suero o humor vítreo humano.

Juntando ambos procedimientos de obtención de artículos, finalmente se seleccionaron 16.

**Identificación de nuevos estudios a través de las bases de datos y registros**

**Identificación de nuevos estudios a través de otros métodos**



**Figura 1.** Diagrama de flujo para la selección de estudios

## 8.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS

Teniendo en cuenta lo expuesto en el apartado de metodología para la extracción de datos, se crearon tablas con las características principales para cada estudio.

**Tabla 3. Extracción de datos de 5 artículos**

AUTOR, FECHA	TIPO DE ESTUDIO	NIVEL DE EVIDENCIA	Nº DE INDIVIDUOS	DM	MUESTRA	MiRNA	PARÁMETRO ANGIOGÉNICO	MÉTODOS
Gomaa AR, et al. June 2017	Casos y controles	2 +	Grupo RDP: 29 GC: 30 pacientes sin RD con AMI	DM1 y DM2	Humor Vítreo	MiRNA-200b	VEGF	Se obtuvo los microRNAs empleando "Real-Time Quantitative PCR" (qRT-PCR) siguiendo el "protocolo TaqMan MicroRNA" para su cuantificación. La medida del VEGF se hizo con enzimas usando "Quantikine Human VEGF assay kit (R&D Systems).
Liu HN, Li X, et al. December 2018	Transversal	3*	GC: 33 Grupo NRD: 37 Grupo RDNP: 34 Grupo RDP: 30	DM2	Suero	MiR-221	Angiotensina II (ang II) VEGF	Los niveles de MiRNA en suero fueron cuantificados mediante qRT-PCR. Los niveles de Ang II y VEGF fueron medidos con kits ELISA específicos.
Guo J, Zhou P, et al. August 2021	Casos y controles	2+	GC con AMI: 5. Grupo RDP: 5 <u>Grupo de validacion:</u> Grupo RDP: 20 GC con AMI: 20	DM2	Humor Vítreo	miR-197-3p miR-3184-3p. miR-24-3p miR-3074-5p. miR-10a-5p. miR-22-3p. miR-23a-3p. miR-16-5p. miR-92a-3p.	VEGF-A TGF-B	Se empleó qRT-PCR para obtener las concentraciones de MiRNA específicos. Para las concentraciones de VEGF-A y TGF-B se empleó el método ELISA.
Pastukh N, Meerson A, et al. August 2018	Casos y controles	2-	GC: 10 Grupo NRD: 10 Grupo RDNP: 10 Grupo RDP: 10	DM2	Suero	miR-126-3p miR-130a-3p miR-21-1 miR-122 miR-30c miR-451a Let-7f-5p	Unidades Formadoras de Colonias-Celulas endoteliales progenitoras (UFC-CEP)	Para examinar los niveles de MiRNA se empleo qRT-PCR. Para los niveles de UFC-CEP se compararon dichos niveles en suero para todos los sujetos independientemente del estado de la enfermedad.
Liu R, Liu CM, et al. August 2019	Casos y controles	2-	GC con AMI: 30. Grupo RDNP grave:17 Grupo RDNP muy grave: 20 Grupo RDP: 13	DM2	Humor vítreo. Tejidos de membranas proliferativas pre-retinianas. Suero	miR-126	VEGF	La medición de los niveles de VEGF plasmático se llevó a cabo mediante el método ELISA y en tejido y humor vítreo mediante Western Blotting. La concentración de MiR-126 fue detectada mediante qPCR.

**Tabla 4.** Extracción de datos de 5 artículos.

AUTOR, FECHA	TIPO DE ESTUDIO	NIVEL DE EVIDENCIA	Nº DE INDIVIDUOS		MUESTRA	MiRNA	PARÁMETRO ANGIOGÉNICO	MÉTODOS
Moustafa SS, et al. October 2019	Casos y controles	2-	GC con DM: 20 Grupo RDNP: 20 Grupo RDP: 20	DM2	Suero	miRNA-27b	TSP-1	Los niveles de MiRNA y TSP-1 se obtuvieron mediante test de laboratorio específicos.
Pramanik S, et al. February 2022	Transversal	3*	Grupo RDNP: 31 Grupo NRD: 19	DM2	Suero Humor vítreo	miR-126 miR-132	VEGF	La concentración de VEGF en plasma se hizo mediante ELISA. El RNA fue extraído del plasma y del vítreo mediante el reactivo TRIZOL y cuantificado mediante espectrofotometría y fluorometría. Después se empleo PCR en tiempo real.
Zou HL, Wang Y. April 2017	Casos y controles	2+	Grupo RD: 75 Grupo NRD: 65. GC: 127	DM2	Suero	miR-93	VEGF <sub>xx</sub> Otros: <i>TNF-IL-1</i> <i>IL-6</i>	Se utilizó qRT-PCR para cuantificar los niveles de miR-93. Para los niveles de VEGF se empleo ELISA.
García de la Torre N, Fernández-Durango R, et al. May 2015	Transversal	3*	Grupo RD: 41 Grupo NRD: 35. GC: 38	DM1	Suero	miR-126. miR-221. miR-222	Celulas progenitoras endoteliales (CPE) (tempranas y tardías)	Se extrajeron las CPE del suero mediante centrifugación y fueron cultivadas. Para el analisis de las CPE circulantes se emplearon anticuerpos monoclonales conjugados fluorescentes y medidos posteriormente con citometria de flujo. Las CPE tempranas se identificaron con CD45/CD34/KDR y las tardías con CD45/CD34/CD144. Los miRNAs fueron identificados mediante "miRNeasy Mini Kit"
Li EH, Huang QZ, et al. 2017 January	Casos y controles	2+	Grupo Control: 253. Grupo RD: 255	DM2	Suero	miR-200b	VEGF-A	La relación entre miR-200b y VEGF-A fue predefinida mediante bioinformática y corroborado mediante un ensayo genético doble luciferasa. Después de centrifugar la sangre, fueron detectados los niveles de miR-200b y VEGFA mRNA mediante qRT-PCR. El estudio emplea también ratas, pero saca conclusiones separadas entre humanos y ratas.

**Tabla 5.** Extracción de datos de 3 artículos

AUTOR, FECHA	TIPO DE ESTUDIO	NIVEL DE EVIDENCIA	Nº INDIVIDUOS	DM	MUESTRA	MiRNA	PARÁMETRO ANGIOGÉNICO	MÉTODOS
Liu X, Zhou Y, et al. April 2021	Casos y controles	2+	GC: 60 Grupo NRD: 35 Grupo RDNP: 55 Grupo RDP: 45	DM2	Suero	miR-425-5p		Los niveles de miR-425-5p se detectaron mediante qRT-PCR
	Estudio in vitro		GC: células con BNG Grupo estudio: células con ANG		CEMRH obtenidas de "Bena Culture"	mimético e inhibidor de miR-425-5p	Proliferación de CEMRH	El crecimiento de las CEMRH se llevó a cabo con un contador de células "Kit-8". Los niveles de RNA se extrajeron mediante TRIZOL y qRT-PCR.
Yin C, Lin X, et al. 2020	Casos y controles	2+	GC: 60. Grupo NRD: 40. Grupo RDNP: 60. Grupo RDP: 50	DM2	Suero	miR-210		Los niveles de miR-210 se detectaron mediante qRT-PCR
	Estudio in vitro		GC: células con BNG. Grupo estudio: células con ANG		CEHVU del instituto de Shangai de Ciencias Biológicas	miR-210 mimético, inhibidor de miR-210	Proliferación de CEHVU	Los niveles de miR-210 se detectaron mediante qRT-PCR. Para evaluar la actividad de las células se empleó el "ensayo MTT".
Shao J, Fan G, et al. August 2019	Casos y controles	2+	<u>Suero:</u> GC : 50 Grupo RDNP: 46 Grupo RDP: 54 <u>Humor acuoso:</u> Grupo control: 20. Grupo RDNP: 20. Grupo RDP: 20	N/D	Suero. Humor acuoso	miR-223-3p		Los niveles de miR-223-3p se obtuvieron con qRT-PCR
	Estudio in vitro		GC: células con BNG Grupo estudio: células con ANG. Se añadieron miR-223-3p inhibidor o mimético.		CERH de la Academia de ciencias de Shangai	miR-223-3p mimético e inhibidor	Proliferación de CERH	La proliferación de las CERH se midió mediante el uso del contador de células "Kit-8"

**Tabla 6.** Extracción de datos de 3 artículos

AUTOR, FECHA	TIPO DE ESTUDIO	NIVEL DE EVIDENCIA	Nº INDIVIDUOS	DM	MUESTRA	MiRNA	PARÁMETRO ANGIOGÉNICO	MÉTODOS
Sun L, Liu X, et al. March 2021	Casos y controles	2-	GC: 28 Grupo RDP: 33	DM2	Suero Muestras de tejido	MiRNA-23a	VEGF	Los niveles de miRNA fueron determinados mediante qRT-PCR y los de VEGF mediante ELISA.
	Estudio in vitro		GC: células sin plásmido AgoMir-23a. Grupo de estudio: células con plásmido con AgoMir-23a		CEMRH de la Academia de ciencias de China.	AgoMir-23a	Proliferación de CEMRH	Se transfirió AgoMir-23a como un plásmido en las CEMRH para valorar la proliferación mediante el empleo del ensayo MTT. Los niveles de Mir-23a y VEGF se midieron con qRT-PCR. En el estudio se emplean también ratas, pero las conclusiones están separadas.
Yang Y, Liu Y, et al. November 2020	Casos y controles	2+	GC NRD: 115 Grupo RDNP: 47 Grupo RDP: 76	DM2	Suero	miR-15b	VEGF	Usando bioinformática, se predijeron diferentes miRNA que tuvieran interacciones con VEGF. De los estudiados, se observó que miR-15b y miR-16 eran los más relacionados. Después se pasó a estudiar únicamente miR-15b en suero y se transfirió a las CEMRH. Los niveles de VEGF fueron determinados mediante ELISA. Para detectar la concentración de miR-15b se empleó qRT-PCR. Se emplearon ratas pero las conclusiones se sacaron por separado.
	Estudio in vitro		GC: células con MiR de control. Grupo de estudio: células con miR-15b mimético		CEMRH obtenidas de "Cell Systems".	miR-15b mimético	Proliferación de CEMRH. VEGF	La angiogenesis fue medida mediante "Matrigel", midiendo los puntos de ramificación.
Zampetaki A, Willeit P, et al. January 2016	Casos y controles anidado	2+	GC: 81 Grupo RDNP: 93.	DM1	Suero	miR-27b miR-320a		Los niveles de los microRNAs se midieron con qRT-PCR.
	Estudio in vitro		GC: células con MiR de control. Grupo de estudio: células con miR-27b mimético y miR-320a mimético		CEHVU. CEMRH obtenidas de "CSC".	miR-27b mimético miR-320a mimético	TSP-1. SEMA6A. NRP1	Los niveles de TSP-1 fueron medidos mediante ELISA. Se transfirieron los miméticos de los miR y los miméticos control a las células humanas, junto con dos dianas conocidas de dichos Mir: SEMA6A y NRP1. Después de 48 horas, se detectaron con luciferasa. Por otro lado, un grupo de células fue estimulado con PMA, junto con los miméticos, determinando la secreción posterior de TSP-1.

### 8.3. RIESGO DE SESGO DE LOS ESTUDIOS

Los resultados individuales de cada estudio en cuanto al análisis del riesgo de sesgo, están presentes en el anexo 7, completando con colores las tablas o checklists empleadas.

El principal sesgo que se obtiene a nivel general es el sesgo por factor de confusión, ya que en algunos estudios no nombran ni directa ni indirectamente aquellos factores que pueden interferir en el resultado final. En cambio, sí que hay otros que emplean alguna medida estadística como un análisis estratificado o bien, interfieren en ese posible factor de confusión antes, generando un apareamiento entre los grupos para dicho factor

Por otro lado, en cuanto al sesgo de selección, en la casi totalidad de los estudios que forman esta revisión se incluye una tabla con las características principales de los grupos a estudio, obteniendo las medias para dichas variables así como una comparación entre ellas por si hubieran diferencias significativas entre los grupos. En 3 estudios sí que hubieron diferencias importantes entre los grupos de comparación.

En la tabla de los estudios de casos y controles, se marcó como “not applicable” el ítem que evaluaba si el tiempo de exposición fue suficientemente largo para ser significativo, ya que el período de exposición a los microRNAs no se puede determinar, únicamente se puede conocer el tiempo de progreso de la enfermedad.

En cuanto al análisis del riesgo de sesgo de los estudios in vitro, en general todos eran más o menos iguales. El ítem que ninguno de los estudios in vitro seleccionados cumplió es la realización de una exposición a ciegas ni randomizada, por lo que es posible que haya sesgo de ejecución o de realización.

A partir de la realización de dichas tablas, se puede extraer una tabla resumen sobre el riesgo de sesgos de los estudios seleccionados:

**Tabla 7.** Riesgo de sesgo: en verde ausencia de riesgo; amarillo riesgo intermedio; rojo riesgo alto.

	Sesgo de selección	Sesgo de clasificación de medida	Sesgo por factor de confusión	Riesgo global	Riesgo sesgo in vitro
Gomaa AR, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	-
Liu HN, Li X, et al.	Verde	Verde	Amarillo	Medio	-
Guo J, Zhou P, et al.	Verde	Verde	Amarillo	Medio	-
Pastukh N, et al.	Rojo	Amarillo	Rojo	Alto	-
Liu R, Liu CM, et al.	Amarillo	Verde	Rojo	Alto	-
Moustafa SS, et al.	Amarillo	Verde	Amarillo	Medio	-
Pramanik S, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	-
Zou HL, Wang Y.	Verde	Verde	Verde	Bajo	-
García de la Torre N, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	-
Li EH, Huang QZ, et al.	Verde	Verde	Amarillo	Medio	-
Liu X, Zhou Y, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	Medio
Yin C, Lin X, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	Medio
Shao J, Fan G, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	Medio
Sun L, Liu X, et al.	Amarillo	Verde	Rojo	Alto	Medio
Yang Y, Liu Y, et al.	Rojo	Verde	Verde	Medio	Medio
Zampetaki A, et al.	Verde	Verde	Verde	Bajo	Medio

#### 8.4. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS

Con los resultados que se han obtenido en cada estudio, se detecta una tendencia a la disregulación de los microRNAs (ya sea un aumento o un descenso) en comparación a los grupos control, así como una alteración del parámetro angiogénico correspondiente. Además, en algunos de los estudios se describe una correlación positiva o negativa entre ambos parámetros con significación estadística.

Por otro lado, en cuanto al tamaño muestral, el mínimo de personas que forman parte de uno de los grupos es de 5 personas y el máximo es de 255. A pesar de ello, dentro de cada estudio el número de personas que forman parte de cada grupo es equitativo, no habiendo diferentes significativas.

A continuación, se describen los resultados individuales de los diferentes estudios que componen esta revisión.

**Gomaa AR, et al. June 2017 (24)**

No hubo diferencias significativas entre ambos grupos teniendo en cuenta la edad ( $p=0.687$ ) y el género ( $p=0.694$ ). Se detectó un aumento de miRNA-200b en el grupo con RDP con respecto a los controles ( $p<0,001$ ) y de VEGF ( $p<0,001$ ). No hubo una correlación significativa entre VEGF y MiRNA-200b en RDP ( $r= 0,014$ ,  $p=0.944$ ) empleando el coeficiente de Spearman. Usando una regresión logística multivariante ajustada por edad, sexo y niveles de VEGF, la asociación entre miRNA-200b y RDP fue significativa ( $p=0.026$ ). La OR ajustada por cada aumento de 1 unidad en la expresión de MiRNA-200b fue de 5,87 (95% IC 1.23-27.96). Por último, los niveles de VEGF y los de MiR no se vieron modificados por el tipo de diabetes ( $p=0,080$ ).

**Liu HN, Li X, et al. December 2018 (25)**

Entre los grupos a estudio no hubo diferencias en cuanto a la edad, género, IMC, TA, CT, etc. En el suero de los pacientes con DM se detectó mayor concentración de miR-221 en comparación con el GC (GC vs NRD  $p=0,015$ , GC vs RDNP y RDP  $p<0,001$ ). Dentro de los casos, los niveles de mir-221, VEGF y Ang II aumentaban conforme progresa la enfermedad. La correlación entre miR-221 fue significativamente positiva para Ang II ( $r=0,667$ ,  $p< 0,001$ ) y VEGF ( $r=0,499$ ,  $p< 0,001$ ). Con el fin de detectar la precisión del diagnóstico con los valores de mir-211, VEGF y Ang II en suero, se realizaron curvas ROC, que dio como resultado una AUC 0,894 (IC 95% 0,833-0,955;  $p<0,001$ ), 0,888 (0,828-0,949;  $p<0,001$ ) y 0,785 (0,695-0,875;  $p<0,001$ ) respectivamente.

**Guo J, Zhou P, et al. August 2021 (26)**

No hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto a la edad ( $p=0,754$  para la primera muestra y  $p=0,100$  en el de validación) ni el género ( $p=0,738$  y  $p=0,744$  respectivamente). Se detectó un aumento de los 10 MicroRNA en el grupo RDP en comparación al grupo control, pero corroborando estos resultados con el grupo de validación, solo se obtuvo un aumento de mir-24-3p, mir-197-3p y mir-3184-3p ( $p=0,003$ ;  $p= 0,004$ ;  $p= 0,0012$  respectivamente). Los niveles medidos mediante ELISA detectaron también un aumento de VEGF-A y TGF-B en el grupo de validación ( $p<0,05$ ). Por último, se obtuvo una correlación positiva significativa entre los miR-

197-3p ( $r=0,514$ ,  $p=0,010$ ), miR-3184-3p ( $r=0,486$ ,  $p=0,016$ ) y miR-24-3p ( $r=0,518$ ,  $p=0,009$ ) y VEGF.

**Pastukh N, Meerson A, et al. August 2018 (27)**

Hubo diferencias significativas comparando la edad entre el grupo control y el resto de grupos ( $p<0,001$ ), pero no en cuanto al sexo. De los 7 MicroRNAs estudiados, solo se observó un incremento progresivo de miR-122 desde los controles hasta el grupo RDNP, pero en cambio descendieron los niveles comparando el grupo RDNP y el grupo RDP ( $p=0,0002$ ). La correlación entre miR-122 y niveles de CFU-EPCs no fue estadísticamente significativa ( $p=0,13$ ).

**Liu R, Liu CM, et al. August 2019 (28)**

En humor vítreo se detectó un aumento de mir-126 en comparación al grupo control, así como un aumento progresivo conforme avanza la enfermedad ( $p<0,05$ ). En cambio, los niveles de VEGF en el grupo control fueron mayores en comparación a los grupos de casos ( $p<0,05$ ), disminuyendo paulatinamente comparándolos entre ellos ( $p<0,05$ ). En el estudio de los tejidos proliferativos y en suero, se observaron los mismos resultados que en humor vítreo con idéntica “p” ( $p<0,05$ ). Finalmente, la correlación entre los niveles de miR-126 y VEGF en las 3 muestras fue una asociación negativa ( $r=-0,719$ )

**Moustafa SS, et al. October 2019 (29)**

En la muestra a estudio hubo diferencias en cuanto al género, pero no en cuanto a la edad. En cuanto a los resultados del estudio, mostraron por un lado un aumento estadísticamente significativo de los niveles de miRNA-27b en suero en el grupo RDP comparado con el GC ( $p=0,01$ ). En cambio, los de TSP-1 descendieron significativamente comparando el grupo RDP y el control ( $p=0,005$ ). MiRNA-27b aumentó conforme avanza la enfermedad ( $p=0,001$ ) y, en cambio, TSP-1 fue disminuyendo ( $p=0,007$ ). Por otro lado, no hubieron diferencias significativas en la expresión de miRNA27-b ( $p<0,117$ ) ni de TSP-1 ( $p<0,168$ ) comparando el grupo RDNP y el control. La correlación de Pearson mostró una relación no significativa entre TSP-1 y miR-27b en el grupo RDP ( $r= -0,12$ ,  $p=0,634$ ). En el grupo RDNP mostró también un resultado no significativo ( $r=0,058$  y  $p=0,789$ ). Por último, a través de un test de rendimiento diagnóstico para mir-27b hecho en el grupo RDP en comparación al GC se observó una AUC de 0,889 con IC 95% (0,744-1.0)  $p<0.001$ .

**Pramanik S, et al. February 2022 (30)**

Los dos grupos no muestran diferencias significativas en términos de edad, sexo, IMC, etc. Los niveles de mir-126 y mir-132 en plasma disminuyeron significativamente en RDNP comparando con NRD ( $p=0,002$  y  $p=0,016$  respectivamente). Por otro lado, en vítreo ocurrió lo mismo, pero más agravada la diferencia, siendo menores los niveles de MicroRNAs en el grupo RDNP ( $p=0,0003$  para ambos). La cantidad VEGF en el plasma fue mayor en el grupo RDNP ( $p=0,0001$ ). Con la correlación de Spearman se observó en el grupo RDNP una correlación negativa significativa entre VEGF y mir-126 ( $r= -0,532$ ,  $p= 0,009$ ). La correlación en este caso de mir-132 con VEGF en el grupo RDNP dio como resultado una asociación negativa significativa ( $r=-0,480$ ,  $p= 0,020$ ). El análisis ROC demostró que los niveles de mir-126 en plasma pueden discriminar la RDNP de NRD con una AUC de 0,7241 (IC 95% (0,56-0,88)  $p=0,01$ ) y para mir-132, 0,7037 IC 95% (0,53-0,87),  $p=0,02$ . Ambos con una sensibilidad del 70% y especificidad del 100%. El mismo análisis estadístico pero en vítreo, aportó una AUC con valor de 1,000 IC 95% (1.000-1.000),  $p=0,001$  para ambos microRNAs.

**Zou HL, Wang Y. April 2017 (31)**

No hubo diferencias significativas entre los grupos teniendo en cuenta la edad, género, IMC, CT, etc. ( $p>0,05$ ). Los niveles de miR-93 y los de VEGF aumentaron significativamente en el grupo RD en comparación del grupo con NRD ( $p<0,05$ ). Ambos también aumentaron comparando ambos grupos con el GC ( $p<0,05$ ). El resultado de la correlación de Pearson entre niveles de miR-93 y VEGF fue positiva y estadísticamente significativa ( $r=0,305$ ,  $p=0,008$ ) en el grupo RD. Se realizó una curva ROC para determinar el valor diagnóstico de mir-93 en RD, y dio como resultado una AUC de 0,866, lo que indica que tiene valor diagnóstico para RD. Por último se hizo un análisis de regresión logística multivariante para calcular factores de riesgo para desarrollar RD y se obtuvo una OR para mir-93 de 35,407 con un IC 95% (1,682-745,425) y  $p=0,022$ .

**García de la Torre N, Fernández-Durango R, et al. May 2015 (32)**

Las poblaciones a estudio de los distintos grupos no tenían diferencias significativas en cuanto a edad, sexo e IMC. En la comparación de pacientes con RD y NRD, el único miR que tuvo un aumento con significación estadística fue el miR-221 ( $p<0,019$ ).

Comparando el grupo GC con el RD, mir-221 también aumentó ( $p=0,049$ ). Los otros dos MicroRNAs medidos, miR-126 y miR-222, aumentaron, pero no fueron significativos. Comparando los dos grupos juntos (DM1) con los controles, se vio un aumento significativo de miR-126 ( $p=0,047$ ). En cuanto al número de CPE circulantes tardías, se vio significativamente reducida en pacientes con DM1 comparados con el GC ( $p=0,004$ ). Las CPE tempranas no se modificaron y no tuvieron significación estadística ( $p=0,870$ ). Se empleó un análisis con curva ROC para la expresión de los diferentes MicroRNAs, obteniendo para Mir-222 una AUC de 0,5286; para Mir-126 0,5737 y Mir-221 0,6957. Con estos valores y con un punto de corte en 1,14, para Mir-221 se estableció como resultado una especificidad del 60% y sensibilidad del 72%. El AUC de los otros dos microRNAs demuestra que no tienen una buena capacidad discriminatoria. Para determinar el papel independiente de Mir-221 como marcador de RD, se hizo una regresión logística multivariante ajustada por diferentes variables (fumador, HbA1c, etc.) y se obtuvo una OR entre mir-221 y RD de 1,63 IC 95% (1,02-2.60)  $p=0,040$ .

**Li EH, Huang OZ, et al. January 2017 (33)**

En términos de edad y sexo no había diferencias entre ambos grupos. Comparando el GC con el grupo RD, este último tiene un descenso significativo de miR-200b y un incremento significativo de VEGFA ( $p<0,05$ ). La correlación en ambos grupos mostró que miR-200b está negativamente relacionada con VEGF-A ( $r=-0,4036$ ,  $p<0,05$ ).

**Liu X, Zhou Y, et al. April 2021 (34)**

En este estudio hubo apareamiento en el grupo de controles con los casos teniendo en cuenta la edad y el sexo. Los niveles de miR-425-5p aumentaron, comparando el GC con el grupo DM2 en general ( $p<0,05$ ). Dentro de los subgrupos, este MicroRNA fue en aumento conforme avanza la enfermedad ( $p<0,05$ ). Al realizar una curva ROC, se vio que los valores de mir-425-5p podrían ser utilizados para distinguir pacientes sanos del grupo con RD (AUC 0,907). Se observó una correlación positiva entre los niveles de MiRNA y el progreso de la enfermedad ( $r=0,720$ ,  $p=<0,001$ ).

La segunda parte in vitro se puso a prueba lo obtenido en el estudio observacional. Se observó que los niveles de miR-425-5p aumentaron en las CEMRH tratadas con ANG ( $p<0,05$ ). Tras la transferencia de miméticos o inhibidores del MicroRNA en cuestión, se detectó un aumento de la proliferación de CEMRH tratadas con miR-425-5p

mimético y con ANG ( $p < 0,05$ ). Este ambiente rico en glucosa indujo la proliferación y migración de CEMRH. En cambio, fue inhibido por el inhibidor de mir-425-5p ( $p < 0,05$ ).

**Yin C, Lin X, et al. 2020** (35)

Los casos y los controles están emparejados en cuanto a edad, sexo e IMC y no hay diferencias significativas entre ellos. Los resultados de la qRT-PCR demostraron un aumento de miR-210 en los pacientes con DM, en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ). Dentro de los subgrupos con DM, se observa un incremento de miR-210 conforme avanza la enfermedad ( $p < 0,05$ ). La correlación de Pearson mostró una asociación positiva entre miR-210 y la progresión de la enfermedad ( $r = 0,835$ ;  $p < 0,001$ ). Tras realizar un análisis ROC, se comprobó que los niveles de mir-210 en suero pueden ser utilizados para diferenciar pacientes con RD del GC (AUC 0,991) La sensibilidad y especificidad fueron del 95,5% y 95,0%, respectivamente, a un valor de corte de 1,905. Por otro lado, una curva ROC para diferenciar pacientes con RD y otros con DM pero sin RD mostró un AUC de 0,892 con una sensibilidad del 83,6% y una sensibilidad del 80% con el corte en 2,335.

Para comprobar la respuesta celular a este aumento de mir-210, se realizó un estudio in vitro. La expresión de mir-210 en las CEHVU tratadas con ANG tuvo un incremento significativo en comparación al GC ( $p < 0,05$ ). El aumento de Mir-210 promovió la proliferación ( $p < 0,05$ ). Por último, al tratar células con un inhibidor de dicho MicroRNA, ocurrió lo contrario pues se redujo la proliferación celular ( $p < 0,05$ )

**Shao J, Fan G, et al. August 2019** (36)

En este estudio, los integrantes de los diferentes grupos están estratificados por rangos de edad y sexo. Comparando los niveles de mir-223-3p en suero, se observó un aumento comparando el GC con RDP ( $p < 0,01$ ) y también aumentaron conforme avanza la enfermedad (RDNP vs RDP) ( $p < 0,01$ ). Por otro lado, en el humor acuoso se observó un aumento de los niveles de MicroRNA comparando GC y RDP ( $p < 0,01$ ) y haciendo lo propio comparando RDNP y RDP ( $p < 0,05$ ). A través de una regresión logística y curvas ROC, se obtuvo una AUC en suero comparando RDP y control de 0,896 y RDNP vs control de 0,873. Se realizó el mismo procedimiento estadístico en humor acuoso obteniendo una AUC de 0,868 y 0,895 respectivamente.

La segunda fase llevaba a cabo “in vitro”. La comparación de los niveles de miR-223-3p entre células con ANG y BNG resultó que aumentaron los niveles del microRNA conforme aumentó la glucosa ( $p < 0,05$ ). El análisis de la proliferación de CERH dio como resultado un aumento de la misma cuando eran expuestas a miR-223-3p mimético ( $p < 0,05$ )

**Sun L, Liu X, et al. March 2021 (37)**

Los resultados indicaron que, comparando el GC con el grupo RDP los niveles de MiRNA-23a en suero y tejidos se vieron reducidos significativamente ( $p < 0,05$ ) mientras que los niveles de VEGF en suero y tejidos tuvieron un incremento significativo ( $p < 0,05$ ).

Después de dicho estudio, se llevo a cabo un experimento in vitro. Se pudo determinar una reducción significativa de la proliferación celular en las células con el plásmido AgoMir-23a ( $p < 0,05$ ), por lo que estos resultados sugieren que Agomir-23a puede influir negativamente en VEGF para inhibir la neoproliferación.

**Yang Y, Liu Y, et al. November 2020 (38)**

Hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto a edad y sexo. Los resultados obtenidos fueron una reducción significativa de los niveles de mir-15b comparando el grupo sin RD con el grupo RDP ( $p < 0,001$ ). Los niveles de VEGF en suero fueron aumentando conforme aumenta la enfermedad ( $p < 0,001$ ). Además, se obtuvo una correlación inversa significativa en todos los sujetos ajustada por edad y sexo en el grupo RDP ( $r = -0,13$ ,  $p < 0,05$ ). Se calculó el riesgo de RD con el incremento de mir-15b y dio como resultado una OR de 0,58 IC 95% (0,43-0,79) por lo que la asociación entre ellas es negativa.

En la segunda parte de este estudio se comprobó in vitro que las células que habían sido tratadas con miR-15b redujeron su actividad angiogénica en comparación al grupo control ( $p < 0,01$ ). Luego se midieron los niveles de VEGF en las células tratadas con miR-15b, lo que dio como resultado una disminución de los niveles de VEGF en comparación al control ( $p < 0,01$ ).

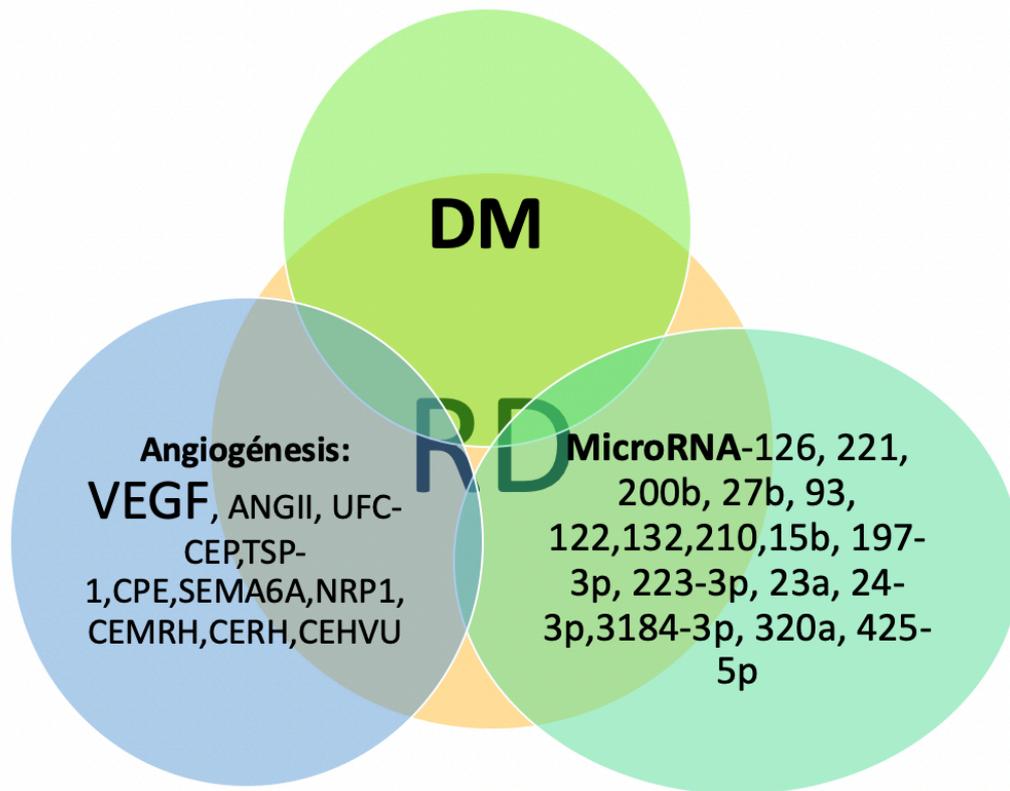
**Zampetaki A, et al. January 2016 (39)**

No hubo diferencias en cuanto a edad ni género entre los grupos a estudio. Tras realizar una regresión logística se observó que los microRNAs en suero que más se asociaban con la incidencia y progresión de la enfermedad eran miR-27b (disminuyó) y miR-320<sup>a</sup> (aumentó). Se calculó la OR ajustada por edad, sexo y TA diastólica para el aumento de miR-27b y dio como resultado 0,78 (IC 95% [0.57-1.07] p=0,124 y para mir-320a fue 1.43 IC 95 [1,05-1,94] p=0,021.

Llevando estos resultados a un estudio experimental, se intentó hallar la relación de estos fragmentos de DNA con SEMA6A, NRP1y TSP-1. La actividad de las dianas SEMA6A y NRP1 descendió un 30 y 40% respectivamente (p<0,05). En las células endoteliales estimuladas con PMA (promotor de la proliferación) junto con mir-27b se vio un leve descenso de TSP-1, pero el descenso fue mayor con mir-320a.

En el anexo 8 se adjunta una tabla con los estudios seleccionados, el/los MicroRNAs que se miden en cada uno de ellos, el outcome, la correlación y/o regresión logística, Odds Ratio y curva ROC. De esta manera se pueden observar los resultados obtenidos descritos anteriormente de una manera más sencilla. Las flechas indican un aumento o descenso del parámetro medido. En el caso de que no se haya realizado alguna medida estadística especificada en la tabla, se expresa con “N/D”.

Por otro lado, en la Figura 2 se expresan los 3 pilares de la RD descritos en esta revisión de una manera más visual. Por un lado, evidentemente tiene que estar presente la DM, ya sea DM1 o DM2 y la progresión de la misma. También se observan los parámetros angiogénicos medidos en los estudios, resaltando por encima de todos a VEGF debido a que es el más estudiado y el que está más presente en esta revisión. Por último, se incluyen los diferentes microRNAs que se han cuantificado y relacionado tanto con la angiogénesis como con la DM y con ello, con la RD. Tanto la lista de microRNAs como los parámetros angiogénicos más relevantes no será definitiva, ya que en la actualidad siguen siendo objeto de estudio y es de esperar que esta lista siga aumentando.



**Figura 2.** Relación global de los microRNAs junto con los parámetros angiogénicos y la diabetes mellitus estudiados en esta revisión.

## **9. DISCUSIÓN**

Los microRNAs están siendo un nuevo campo de investigación dentro de la RD con la finalidad de identificar su papel en la etiología y su posible utilidad como prevención en la progresión de la misma. Pero no solo en la RD, también en otras patologías asociadas a la DM han sido descritas asociaciones entre más de 150 microRNAs y los órganos diana afectados (40). Por lo que atañe a esta revisión, se han buscado artículos que relacionen MicroRNAs con parámetros angiogénicos (principalmente VEGF) en personas con RD.

Los resultados obtenidos permiten observar diferencias en los niveles de microRNAs en suero, comparándolos con los niveles del grupo control. Así pues, se vio una subida significativa de mir-27b, 93, 122, 126, 210, 221, 223-3p, 320a y una bajada significativa

de 15b, 23a, 27b, 122, 126, 132, 200b, 425-5p. La bajada de mir-200b en este caso se corrobora con los datos aportados por otro meta-análisis (41). Por otro lado, los diferentes parámetros angiogénicos medidos en cada estudio (VEGF, Ang II, CEMRH, etc.) tuvieron también diferencias significativas comparadas con el grupo control (25,27–39). Además de las desregulaciones descritas, se llevaron a cabo correlaciones entre microRNAs (mir-15b, 27b, 93, 126, 200b, 221) y los niveles de VEGF en suero, siendo estadísticamente significativos (25,30,31,33,37,38). Esta correlación también fue estadísticamente significativa en la subida de mir-221 y los niveles de Ang II (25).

A pesar de ello, en dos artículos de esta revisión se describen resultados diferentes de Mir-126 en suero, cada uno aportando una correlación negativa entre este microRNA y VEGF, pero dando resultados contrarios, ya que en Liu R, et al (28) detectan un aumento de mir-126 y bajada de VEGF y en Pramanik S, et al (30) detectan justo lo contrario. En otro estudio, también presente en este trabajo, detectan un aumento de mir-126 (sin correlacionarlo con VEGF) pero no fue estadísticamente significativo (32). Finalmente, en una revisión sistemática también se observa una de caída de los niveles de microRNA-126 (42). Esta discordancia en los resultados también ocurre con el microRNA-27b, en el cual se detecta un marcado descenso en el estudio de Zampetaki A, et al (39) y en cambio, un aumento en el de Moustafa SS, et al (29) (aunque en este último la correlación no salió estadísticamente significativa). El descenso de los niveles de miR-27b también se ve corroborado por lo descrito en otro meta-análisis (43). Por último, en el estudio de Pastukh N, et al (27) los niveles de mir-122 van aumentando de GC al grupo RDNP y luego descienden comparando RDNP y RDP.

En cuanto a la detección de células angiogénicas en suero, García de la torre N, et al (32) describieron un aumento de 3 microRNAs (mir-126, 221, 222) y una bajada en los niveles de CPE tardías, a pesar de que no hicieron una correlación estadística y los resultados de mir-126 y 222 no fueron significativos. Por su parte, en Pastukh N, et al (27) encontraron una correlación no significativa con UFC-CEP. Moustafa SS, et al (29) también detectaron un aumento de Micro-27b y una bajada de TSP-1, otra biomolécula relacionada con la angiogénesis pero en este caso no fue estadísticamente significativo. En general, los estudios en los que el outcome no fue VEGF no tuvieron resultados significativos.

Otros estudios llevaron a cabo su investigación en humor vítreo, detectando una correlación positiva entre el aumento de 3 microRNAs (mir-24-3p, 197-3p y 3184-3p) y un aumento de VEGFA (26). Sin embargo, en otros dos estudios (24,28) estas correlaciones no fueron estadísticamente significativas. En la revisión de Martínez B, et al (42) sí que se describe la relación entre determinados mir en humor vítreo y la RD.

Con el fin de proporcionar más literatura en la relación entre estos fragmentos de DNA y la angiogénesis en RD, se incluyeron artículos que tuvieran un estudio observacional y una comprobación in vitro de dicha relación. Uno de estos estudios observó como el aumento significativo de mir-223-3p detectado en el suero del grupo RDP, luego en investigación in vitro produjo una proliferación de celularidad angiogénica (CERH) (36). Ocurrió lo mismo en otros estudios (34,35,37–39), lo que en cierta medida nos da datos de dicha interacción.

Para determinar si los microRNAs pueden ser biomarcadores en la RD, diferentes estudios realizaron curvas ROC para hallar la AUC y así evaluar la validez de estos como proceso diagnóstico de la RD. Las AUC calculadas en relación a los microRNAs en suero (mir-221, 27b, 126, 132, 93, 222, 425-5p, 210 y 223-3p) dieron como resultado que sí que tienen valor para diferenciar a pacientes con y sin RD (25,29–32,34–36), como ya se había estudiado en otros meta-análisis (41–44). Por otra parte, en cuanto al valor diagnóstico de los microRNAs en humor vítreo, solo un artículo realizó una curva ROC (30), con un valor positivo (0,868) para mir-126 y mir-132.

Los estudios que forman parte de esta revisión se han llevado a cabo, primordialmente, en pacientes con DM2 aunque también hay algunos con DM1. Es importante remarcar que en el caso del estudio de Goma AR, et al(24) emplea una muestra con pacientes con DM1 y otra con DM2, dando como resultado una ausencia de diferencias significativas comparando ambos grupos en cuanto a cantidad de microRNAs (mir-200b) y VEGF.

En relación al riesgo de sesgo en los estudios expuestos, se puede observar en la tabla resumen que el 50% de ellos tiene un riesgo bajo; 31,25% riesgo medio y 18,75% un riesgo alto. Esto determina que el riesgo general de sesgo de esta revisión es medio-bajo por lo que los resultados obtenidos en estos estudios hay que estudiarlos con cautela.

## 9.1. LIMITACIONES

Una de las limitaciones de esta revisión es que está compuesta por estudios de casos y controles y transversales, por lo que la evidencia de los resultados obtenidos no es tan alta como con estudios de cohortes o ensayos clínicos. Además, también se emplean algunos estudios in vitro. El hecho de no contar con estudios de seguimiento prospectivo limita la obtención de datos más reales acerca de los cambios producidos desde el comienzo de la DM hasta la generación de la RD. Los estudios de casos y controles suelen sobreestimar el riesgo asociado entre los parámetros medidos. Los estudios transversales no permiten demostrar hipótesis de causalidad, por lo que también limita las aportaciones a la revisión.

Por otro lado, en general el tamaño muestral no es grande por ello extrapolar estos resultados a la población general puede acarrear un cierto grado de error estadístico. Además, el riesgo sesgo de selección de la muestra en algunos casos es elevado (27,29,37) lo que influye negativamente sobre la evidencia de los estudios.

También es importante remarcar que la DM2 se enmarca dentro de un gran síndrome como es el síndrome metabólico. Se caracteriza por una hiperglucemia en ayunas, hipercolesterolemia, aumento de LDL y TA alta. En la mayoría de los estudios se miden estos niveles entre los grupos comparativos con el fin de observar si había diferencias significativas y sí que solían haberlas. En algunos estudios además analizaban la influencia de estos parámetros en los niveles de microRNA, y efectivamente, en algunos se ve una correlación significativa (30–32,38), pero en cambio en otro estudio obtuvieron correlaciones no estadísticamente significativas con Hb1Ac, TG o CT (29). Se podría concluir que sí que afectan a los niveles de MicroRNAs en sangre las variables comentadas, pero en conjunto entrarían dentro del síndrome metabólico relacionado también con la DM2.

## **10. CONCLUSIONES**

A través de la extracción de los datos y resultados de los estudios se puede llegar a la conclusión de que los MicroRNAs podrían tener un papel regulador en el proceso angiogénico, aunque dicho papel está todavía por determinar firmemente. La obtención de correlaciones significativas en estos estudios o la demostración in vitro de lo que supone una desregulación de estas biomoléculas aporta información sobre que, efectivamente, hay un feedback entre los microRNAs y moléculas generadoras de neovasos retinianos. Esta relación se ve más fuertemente respaldada con los valores obtenidos en suero y en relación con VEGF. No es posible hacer una afirmación categórica de esto, pues quedarían por hacer más estudios y de más evidencia científica para llegar a una conclusión con unos “cimientos” más fuertes sobre los que asentarse.

Por otro lado, el posible empleo de estos microRNAs como diana terapéutica en la RD está todavía por demostrar. Como se ha comentado anteriormente sí que hay indicios del nexo de unión entre ambas, por lo que en un futuro sí que podrían ser una herramienta más en el tratamiento.

Por último, tras el análisis de las diferentes curvas ROC se podría decir que en un futuro los niveles (sobre todo en suero) de ciertos MicroRNAs podrían ser utilizados como biomarcadores y parámetros diagnósticos de la RD.

## **11. BIBLIOGRAFÍA**

1. Oltra Sanchis, M. Study of the microRNA expression profile dysregulation by hydrogen peroxide on the retinal pigment epithelium cells: role of miR-205-5p [Tesis Doctoral]. Valencia. Universidad Católica de Valencia; 2021.
2. Bhaskaran M, Mohan M. MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease. *Vet Pathol.* 2014;51(4):759-74.
3. Kumar S, Vijayan M, Bhatti JS, Reddy PH. MicroRNAs as Peripheral Biomarkers in Aging and Age-Related Diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;146:47-94.
4. Giner M., Montoya M.J., Vázquez M.A., Miranda C., Miranda M.J. P-CR. Qué son los microARNs?: posibles biomarcadores y dianas terapéuticas en la enfermedad osteoporótica. *Journal of Osteoporosis & Mineral Metabolism.* 2016;8(1):40-4.
5. Adair TH, Montani J-P. Angiogenesis. *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to disease.* San Rafael, California. Granger D, Granger J, editores; 2010. 1-84 p.
6. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochem.* 2008;73(7):751-62.
7. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell.* 2019;176(6):1248-64.
8. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology.* 2005;69(SUPPL. 3):4-10.
9. Duffy AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF. En: Harmey, JH, editora. *VEGF and Cancer.* Georgetown (Texas): Landes Bioscience; 2004. p. 133-144.
10. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999;13(1):9-22.
11. Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(6):385-403.

12. Carbajo-Lozoya J, Lutz S, Feng Y, Kroll J, Hammes HP, Wieland T. Angiotensin II modulates VEGF-driven angiogenesis by opposing effects of type 1 and type 2 receptor stimulation in the microvascular endothelium. *Cell Signal*. 2012;24(6):1261-9.
13. Fukumoto M, Takai S, Ishizaki E, Sugiyama T, Oku H, Jin D, et al. Involvement of angiotensin II-dependent vascular endothelial growth factor gene expression via NADPH oxidase in the retina in a type 2 diabetic rat model. *Curr Eye Res*. 2008;33(10):885-91.
14. Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, et al. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev*. 2020;86.
15. Simó-Servat O, Hernández C, Simó R. Diabetic Retinopathy in the Context of Patients with Diabetes. *Ophthalmic Res*. 2019;62(4):211-7.
16. Whitehead M, Wickremasinghe S, Osborne A, Van Wijngaarden P, Martin K. Diabetic retinopathy: a complex pathophysiology requiring novel therapeutic strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(12):1257-70.
17. Pareja-Ríos A, Serrano-García MA, Marrero-Saavedra MD, Abraldes-López VM, Reyes-Rodríguez MA, Cabrera-López F, et al. Manejo de las complicaciones oculares de la diabetes. Retinopatía Diabética y Edema Macular."Guías de Práctica Clínica de la SERV". *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2009;84(9):429-50.
18. Yanoff M, Duker J. *Ophthalmology*. 5.<sup>a</sup> ed. Edinburgh. Elsevier, editor; 2018. 1440 p.
19. Gester H. Review: Antioxidant protection of the ageing macula. *Age Ageing*. 1991;20(1):60-9.
20. Romero-Aroca P, Sagarra Alamo R. Anatomía de la retina La retinopatía diabética e hipertensiva Los principales problemas de salud Anatomía de la retina normal. *AMF*. 2018;14(7):382-93.
21. Simó R. Factores angiogénicos y antiangiogénicos en la retinopatía diabética. 2006;1(4):233-6.
22. Moola, S. Muun, Z. Tufanaru, C. Aromataris, E. Sears, K. Sfetcu, R. Currie, M. Qureshi, R. Mattis, P. Lisy, K. Mu P-F. Chapter 7: Systematic Reviews of etiology and risk. En: Aromataris E, Munn Z, editores. *JBIM Manual for Evidence Synthesis*; 2020.

23. Golbach LA, Portelli LA, Savelkoul HFJ, Terwel SR, Kuster N, de Vries RBM, et al. Calcium homeostasis and low-frequency magnetic and electric field exposure: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Environ Int.* 2016;92-93:695-706.
24. Gomaa AR, Elsayed ET, Moftah RF. MicroRNA-200b Expression in the Vitreous Humor of Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy. *Ophthalmic Res.* 2017;58(3):168-75.
25. Liu HN, Li X, Wu N, Tong MM, Chen S, Zhu SS, et al. Serum microRNA-221 as a biomarker for diabetic retinopathy in patients associated with type 2 diabetes. *Int J Ophthalmol.* 2018;11(12):1889-94.
26. Guo J, Zhou P, Pan M, Liu Z, An G, Han J, et al. Relationship between elevated microRNAs and growth factors levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications.* 2021;35(11).
27. Pastukh N, Meerson A, Kalish D, Jabaly H, Blum A. Serum miR-122 levels correlate with diabetic retinopathy. *Clin Exp Med.* 2019;19(2):255-60.
28. Liu R, Liu CM, Cui LL, Zhou L, Li N, Wei XD. Expression and significance of miR-126 and VEGF in proliferative diabetic retinopathy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;12(15):6387-93.
29. Moustafa SS, Shawkey MNE-D, Abd Elhameed AA, EL Hefny MM, Hanady RA-EN. Circulating Angiogenic microRNA-27b and Thrombospondin-1 (TSP-1) Level in Patients with Diabetic Retinopathy. *Egypt J Hosp Med.* 2019;77(2):4925-32.
30. Pramanik S, Saha C, Chowdhury S, Bose C, Bhattacharyya NP, Mondal LK. Decreased Levels of miR-126 and miR-132 in Plasma and Vitreous Humor of Non-Proliferative Diabetic Retinopathy Among Subjects with Type-2 Diabetes Mellitus. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2022;15:345-58.
31. Zou HL, Wang Y, Gang Q, Zhang Y, Sun Y. Plasma level of miR-93 is associated with higher risk to develop type 2 diabetic retinopathy. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017;255(6):1159-66.
32. García de la Torre N, Fernández-Durango R, Gómez R, Fuentes M, Roldán-Pallarés M, Donate J, et al. Expression of angiogenic MicroRNAs in endothelial progenitor cells from type 1 diabetic patients with and without diabetic retinopathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(6):4090-8.

33. Li EH, Huang QZ, Li GC, Xiang ZY, Zhang X. Effects of miRNA-200b on the development of diabetic retinopathy by targeting VEGFA gene. *Biosci Rep.* 2017;37(2):1-14.
34. Liu X, Zhou Y, Liu Y, Wang Q, Pan L. MicroRNA-425-5p Is Involved in the Development of Diabetic Retinopathy and Regulates the Proliferation and Migration of Retinal Microvascular Endothelial Cells. *Ophthalmic Res.* 2022;65(1):60-7.
35. Yin C, Lin X, Sun Y, Ji X. Dysregulation of miR-210 is involved in the development of diabetic retinopathy and serves a regulatory role in retinal vascular endothelial cell proliferation. *Eur J Med Res.* 2020;25(1):1-8.
36. Shao J, Fan G, Yin X, Gu Y, Wang X, Xin Y, et al. A novel transthyretin/STAT4/miR-223-3p/FBXW7 signaling pathway affects neovascularization in diabetic retinopathy. *Mol Cell Endocrinol.* 2019;498.
37. Sun L, Liu X, Zuo Z. Regulatory role of miRNA-23a in diabetic retinopathy. *Exp Ther Med.* 2021;22(6):1-9.
38. Yang Y, Liu Y, Li Y, Chen Z, Xiong Y, Zhou T, et al. MicroRNA-15b Targets VEGF and Inhibits Angiogenesis in Proliferative Diabetic Retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(11):3404.
39. Zampetaki A, Willeit P, Burr S, Yin X, Langley SR, Kiechl S, et al. Angiogenic microRNAs linked to incidence and progression of diabetic retinopathy in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2016;65(1):216-27.
40. Zhu H, Leung SW. Identification of microRNA biomarkers in type 2 diabetes: a meta-analysis of controlled profiling studies. *Diabetologia.* 2015;58(5):900-11.
41. Smit-McBride Z, Morse LS. MicroRNA and diabetic retinopathy—biomarkers and novel therapeutics. *Ann Transl Med.* 2021;9(15):1280-1280.
42. Martinez B, Peplow P. MicroRNAs as biomarkers of diabetic retinopathy and disease progression. *Neural Regen Res.* 2019;14(11):1858-69.
43. Zhou H, Peng C, Huang DS, Liu L, Guan P. MicroRNA Expression Profiling Based on Microarray Approach in Human Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *DNA Cell Biol.* 2020;39(3):441-50.
44. Liang YZ, Li JJH, Xiao HB, He Y, Zhang L, Yan YX. Identification of stress-related microRNA biomarkers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *J Diabetes.* 2020;12(9):633-44.

## 12. ANEXO

### Anexo 1: Lista de verificación PRISMA 2020

Sección/tema	Ítem n.º	Ítem de la lista de verificación	Localización del ítem en la publicación
<b>TÍTULO</b>			
Título	1	Identifique la publicación como una revisión sistemática.	
<b>RESUMEN</b>			
Resumen estructurado	2	Vea la lista de verificación para resúmenes estructurados de la declaración PRISMA 2020 (tabla 2).	
<b>INTRODUCCIÓN</b>			
Justificación	3	Describa la justificación de la revisión en el contexto del conocimiento existente.	
Objetivos	4	Proporcione una declaración explícita de los objetivos o las preguntas que aborda la revisión.	
<b>MÉTODOS</b>			
Criterios de elegibilidad	5	Especifique los criterios de inclusión y exclusión de la revisión y cómo se agruparon los estudios para la síntesis.	
Fuentes de información	6	Especifique todas las bases de datos, registros, sitios web, organizaciones, listas de referencias y otros recursos de búsqueda o consulta para identificar los estudios. Especifique la fecha en la que cada recurso se buscó o consultó por última vez.	
Estrategia de búsqueda	7	Presente las estrategias de búsqueda completas de todas las bases de datos, registros y sitios web, incluyendo cualquier filtro y los límites utilizados.	
Proceso de selección de los estudios	8	Especifique los métodos utilizados para decidir si un estudio cumple con los criterios de inclusión de la revisión, incluyendo cuántos autores de la revisión cribaron cada registro y cada publicación recuperada, si trabajaron de manera independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Proceso de extracción de los datos	9	Indique los métodos utilizados para extraer los datos de los informes o publicaciones, incluyendo cuántos revisores recopilaban datos de cada publicación, si trabajaron de manera independiente, los procesos para obtener o confirmar los datos por parte de los investigadores del estudio y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Lista de los datos	10a	Enumere y defina todos los desenlaces para los que se buscaron los datos. Especifique si se buscaron todos los resultados compatibles con cada dominio del desenlace (por ejemplo, para todas las escalas de medida, puntos temporales, análisis) y, de no ser así, los métodos utilizados para decidir los resultados que se debían recoger.	
	10b	Enumere y defina todas las demás variables para las que se buscaron datos (por ejemplo, características de los participantes y de la intervención, fuentes de financiación). Describa todos los supuestos formulados sobre cualquier información ausente ( <i>missing</i> ) o incierta.	
Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales	11	Especifique los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios incluidos, incluyendo detalles de las herramientas utilizadas, cuántos autores de la revisión evaluaron cada estudio y si trabajaron de manera independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Medidas del efecto	12	Especifique, para cada desenlace, las medidas del efecto (por ejemplo, razón de riesgos, diferencia de medias) utilizadas en la síntesis o presentación de los resultados.	
Métodos de síntesis	13a	Describa el proceso utilizado para decidir qué estudios eran elegibles para cada síntesis (por ejemplo, tabulando las características de los estudios de intervención y comparándolas con los grupos previstos para cada síntesis (ítem n.º 5).	
	13b	Describa cualquier método requerido para preparar los datos para su presentación o síntesis, tales como el manejo de los datos perdidos en los estadísticos de resumen o las conversiones de datos.	
	13c	Describa los métodos utilizados para tabular o presentar visualmente los resultados de los estudios individuales y su síntesis.	
	13d	Describa los métodos utilizados para sintetizar los resultados y justifique sus elecciones. Si se ha realizado un metanálisis, describa los modelos, los métodos para identificar la presencia y el alcance de la heterogeneidad estadística, y los programas informáticos utilizados.	
	13e	Describa los métodos utilizados para explorar las posibles causas de heterogeneidad entre los resultados de los estudios (por ejemplo, análisis de subgrupos, metarregresión).	
	13f	Describa los análisis de sensibilidad que se hayan realizado para evaluar la robustez de los resultados de la síntesis.	

*Anexo 1. Lista de verificación PRISMA 2020 (continuación)*

Sección/tema	Ítem n.º	Ítem de la lista de verificación	Localización del ítem en la publicación
Evaluación del sesgo en la publicación	14	Describa los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo debido a resultados faltantes en una síntesis (derivados de los sesgos en las publicaciones).	
Evaluación de la certeza de la evidencia	15	Describa los métodos utilizados para evaluar la certeza (o confianza) en el cuerpo de la evidencia para cada desenlace.	
<b>RESULTADOS</b>			
Selección de los estudios	16a	Describa los resultados de los procesos de búsqueda y selección, desde el número de registros identificados en la búsqueda hasta el número de estudios incluidos en la revisión, idealmente utilizando un diagrama de flujo (ver figura 1).	
	16b	Cite los estudios que aparentemente cumplían con los criterios de inclusión, pero que fueron excluidos, y explique por qué fueron excluidos.	
Características de los estudios	17	Cite cada estudio incluido y presente sus características.	
Riesgo de sesgo de los estudios individuales	18	Presente las evaluaciones del riesgo de sesgo para cada uno de los estudios incluidos.	
Resultados de los estudios individuales	19	Presente, para todos los desenlaces y para cada estudio: a) los estadísticos de resumen para cada grupo (si procede) y b) la estimación del efecto y su precisión (por ejemplo, intervalo de credibilidad o de confianza), idealmente utilizando tablas estructuradas o gráficos.	
Resultados de la síntesis	20a	Para cada síntesis, resume brevemente las características y el riesgo de sesgo entre los estudios contribuyentes.	
	20b	Presente los resultados de todas las síntesis estadísticas realizadas. Si se ha realizado un metanálisis, presente para cada uno de ellos el estimador de resumen y su precisión (por ejemplo, intervalo de credibilidad o de confianza) y las medidas de heterogeneidad estadística. Si se comparan grupos, describa la dirección del efecto.	
	20c	Presente los resultados de todas las investigaciones sobre las posibles causas de heterogeneidad entre los resultados de los estudios.	
	20d	Presente los resultados de todos los análisis de sensibilidad realizados para evaluar la robustez de los resultados sintetizados.	
Sesgos en la publicación	21	Presente las evaluaciones del riesgo de sesgo debido a resultados faltantes (derivados de los sesgos de en las publicaciones) para cada síntesis evaluada.	
Certeza de la evidencia	22	Presente las evaluaciones de la certeza (o confianza) en el cuerpo de la evidencia para cada desenlace evaluado.	
<b>DISCUSIÓN</b>			
Discusión	23a	Proporcione una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias.	
	23b	Argumente las limitaciones de la evidencia incluida en la revisión.	
	23c	Argumente las limitaciones de los procesos de revisión utilizados.	
	23d	Argumente las implicaciones de los resultados para la práctica, las políticas y las futuras investigaciones.	
<b>OTRA INFORMACIÓN</b>			
Registro y protocolo	24a	Proporcione la información del registro de la revisión, incluyendo el nombre y el número de registro, o declare que la revisión no ha sido registrada.	
	24b	Indique dónde se puede acceder al protocolo, o declare que no se ha redactado ningún protocolo.	
	24c	Describa y explique cualquier enmienda a la información proporcionada en el registro o en el protocolo.	
Financiación	25	Describa las fuentes de apoyo financiero o no financiero para la revisión y el papel de los financiadores o patrocinadores en la revisión.	
Conflicto de intereses	26	Declare los conflictos de intereses de los autores de la revisión.	
Disponibilidad de datos, códigos y otros materiales	27	Especifique qué elementos de los que se indican a continuación están disponibles al público y dónde se pueden encontrar: plantillas de formularios de extracción de datos, datos extraídos de los estudios incluidos, datos utilizados para todos los análisis, código de análisis, cualquier otro material utilizado en la revisión.	

*Anexo 2. Tipos de estudios epidemiológicos según el Manual Docente de la Escuela Nacional De Salud. Instituto Carlos III*

- Estudios descriptivos
  - Estudio de una serie de casos
    - Transversal
    - Longitudinal: análisis descriptivo de una cohorte
  - Estudios descriptivos de datos agregados
    - Análisis geográficos
    - Análisis de series temporales
    - Análisis en función de otras variables
  - Estudios descriptivos de prevalencia
- Estudios observacionales de cribado de hipótesis. Diseños incompletos
  - Estudios ecológicos de correlación
  - Diseños proporcionales
    - Estudios de mortalidad proporcional
    - Estudios de morbilidad proporcional
- Estudios analíticos observacionales
  - Estudios transversales
  - Estudios de casos y controles
    - Con casos prevalentes
    - Con casos incidentes
  - Estudios de cohortes
    - Cohortes históricas (retrospectivas)
    - Cohortes concurrentes (prospectivas)
    - Cohortes mixtas
  - Diseños híbridos
    - Estudio de cohorte-casos
    - Estudio de casos y controles anidado en una cohorte
- Estudios experimentales
  - Estudios cuasi-experimentales o de intervención no aleatorizados
  - Ensayo controlado y aleatorizado
    - Ensayo clínico
    - Ensayo de campo
    - Ensayo comunitario

*Anexo 3. Niveles de evidencia de Sign Gradin Systems*

NIVELES DE EVIDENCIA	
1++	High quality meta-analyses, systematic reviews of RCTs, or RCTs with a very low risk of bias
1+	Well-conducted meta-analyses, systematic reviews, or RCTs with a low risk of bias
1-	Meta-analyses, systematic reviews, or RCTs with a high risk of bias
2++	High quality systematic reviews of case control or cohort or studies. High quality case control or cohort studies with a very low risk of confounding or bias and a high probability that the relationship is causal
2+	Well-conducted case control or cohort studies with a low risk of confounding or bias and a moderate probability that the relationship is causal
2-	Case control or cohort studies with a high risk of confounding or bias and a significant risk that the relationship is not causal
3	Non-analytic studies, e.g. case reports, case series
4	Expert opinion

*Anexo 4. Tabla utilizada para la evaluación del riesgo de sesgo en estudios de casos y controles*

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

*Anexo 5. Tabla utilizada para la evaluación del riesgo de sesgo en los estudios transversales*

<b>K. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for analytical cross-sectional study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were the study subjects and the setting described in detail?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Was the exposure measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Were objective, standard criteria used for measurement of the condition?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable

7. Were the outcomes measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

*Anexo 6. Tabla modificada utilizada para la evaluación del riesgo de sesgo en estudios in vitro.*

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

*Anexo 7. Evaluación del riesgo de sesgo.*

**Gomaa AR, et al. June 2017**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and	Yes	No	Unclear	Not applicable

reliable way for cases and controls?				
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Liu HN, Li X, et al. December 2018**

<b>K. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for analytical cross-sectional study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were the study subjects and the setting described in detail?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Was the exposure measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Were objective, standard criteria used for measurement of the condition?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were the outcomes measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Guo J, Zhou P, et al. August 2021**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable

6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Pastukh N, Meerson A, et al. August 2018**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Liu R, Liu CM, et al. August 2019**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Moustafa SS, et al. October 2019**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable

5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Pramanik S, et al. February 2022**

<b>K. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for analytical cross-sectional study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were the study subjects and the setting described in detail?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Was the exposure measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Were objective, standard criteria used for measurement of the condition?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were the outcomes measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**Zou HL, Wang Y. April 2017**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of	Yes	No	Unclear	Not applicable

cases and controls?				
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

**García de la Torre N, Fernández-Durango R, et al. May 2015**

<b>K. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for analytical cross-sectional study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were the study subjects and the setting described in detail?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Was the exposure measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Were objective, standard criteria used for measurement of the condition?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were the outcomes measured in a valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable

5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Yin C, Lin X, et al. 2020**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable

5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Shao J, Fan G, et al. August 2019**

I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable

6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Sun L, Liu X, et al. March 2021**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable

6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Yang Y, Liu Y, et al. 2020 november**

I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases	Yes	No	Unclear	Not applicable

and controls?				
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Zampetaki A, Willeit P, et al. 2016 January**

<b>I. The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for case-control study (last amended in 2017)</b>				
Major Components	Response options			
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
2. Were cases and controls matched appropriately?	Yes	No	Unclear	Not applicable
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	Yes	No	Unclear	Not applicable
5. Was exposure measured in the same way for cases	Yes	No	Unclear	Not applicable

and controls?				
6. Were confounding factors identified?	Yes	No	Unclear	Not applicable
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	Yes	No	Unclear	Not applicable
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	Yes	No	Unclear	Not applicable
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	Yes	No	Unclear	Not applicable
10. Was appropriate statistical analysis used?	Yes	No	Unclear	Not applicable
Overall appraisal: Include <input type="checkbox"/> Exclude <input type="checkbox"/> Seek further info <input type="checkbox"/>				

		Yes	Unclear	No
Reporting quality	Is the cell origin and cell type used reported?			
	Is the duration of exposure reported?			
	Is the frequency of exposure reported?			
Performance bias	Is the temperature controlled?			
	Was the exposure blinded?			
	Was the exposure randomized?			
Selection bias	Is the cell vitality scored/measured?			
Detection bias	Were the methods the same for control and exposure treatment?			
	Were the data measurements randomised?			
Other bias	Was there no industry sponsoring involved?			

**Anexo 8. Tabla con los principales resultados de cada estudio.**

	MicroRNA	Outcome	Correlación / Regresión logística	Odds Ratio	Curva ROC
<b>SUERO</b>					
Liu HN, Li X, et al.	↑ miR-221	↑ Ang II	(r=0,667, p< 0,001)	N/D	AUC 0,894 (IC 95% 0,833-0,955; p<0,001)
		↑ VEGF	(r=0,499, p< 0,001).	N/D	
Liu R, Liu CM, et al.	↑ miR-126	↓ VEGF	(r=-0,719)*	N/D	N/D
Moustafa SS, et al.	↑miRNA-27b	↓ TSP-1	(r= -0,12, p=0,634).	N/D	AUC 0,889 IC 95% (0,744-1.0) p<0.001
Pramanik S, et al.	↓ miR-126	↑ VEGF	r= -0,532, p= 0,009).	N/D	AUC 0,7241 (IC 95% (0,56-0,88) p=0,01)
	↓ miR-132		(r=-0,480, p= 0,020)	N/D	AUC 0,7037 IC 95%(0,53-0,87) p=0,02
Zou HL, Wang Y.	↑ miR-93	↑ VEGF	(r=0,305, p=0,008)		AUC de 0,866
García de la Torre N, et al.	↑ miR-126**	↓ CPE tardías	N/D	N/D	AUC de 0,5737
	↑ miR-221.		N/D	1,63 IC 95% (1,02-2.60) p=0,040 #	AUC de 0,6957
	↑miR-222**		N/D	N/D	AUC de 0,5286
Li EH, Huang QZ, et al.	↓ miR-200b	↑ VEGF-A	(r=-0,4036, p< 0,05).	N/D	N/D
Liu X, Zhou Y, et al.	↑ miR-425-5p	/	(r=0,720, p=<0,001)\$	N/D	AUC 0,907
	mimético de miR- ↑ 425-5p	Proliferación de CEMRH	N/D	N/D	N/D

\*Correlación obtenida en conjunto (suero + humor vítreo)

\*\*Aumento no significativo

\$Correlación de miR y el progreso de la enfermedad

# OR relacionando el MiR y la RD

Anexo 8. Tabla con los principales resultados de cada estudio (continuación).

	MicroRNA	Outcome	Correlación / Regresión logística	Odds Ratio	Curva ROC
<b>HUMOR VÍTREO</b>					
Pramanik S, et al.	↓ miR-126	↑ VEGF	N/D	N/D	AUC 1,000 IC 95% (1.000-1.000), p=0,001 #
	↓ miR-132		N/D	N/D	AUC 1,000 IC 95% (1.000-1.000), p=0,001 #
Gomaa AR, et al.	↑ MiRNA-200b	↑ VEGF	Correlación: (r=0,014, p=0,944) Regresión log Multiv: p=0,026	5,87 (95% IC 1.23-27.96) #	N/D
Guo J, Zhou P, et al.	↑ mir-24-3p.	↑ VEGF-A	(r=0,518, p=0,009)	N/D	N/D
	↑ mir-197-3p		(r=0,514, p=0,010),	N/D	N/D
	↑ mir-3184-3p		(r=0,486, p=0,016)	N/D	N/D
Liu R, Liu CM, et al.	↑ miR-126	↓ VEGF	(r=-0,719)*	N/D	N/D
<b>HUMOR ACUOSO</b>					
Shao J, Fan G, et al.	↑ miR-223-3p	/	N/D	N/D	AUC RDP vs GC 0,868. AUC RDNP vs GC 0,895
	MicroRNA	Outcome	Correlación / Regresión logística	Odds Ratio	Curva ROC
<b>SUERO</b>					
Yin C, Lin X, et al.	↑ miR-210	/	N/D	N/D	AUC 0,991
	↑ miR-210 mimético	↑ Proliferación de CEHVU	N/D	N/D	N/D
Sun L, Liu X, et al.	↓ MiRNA-23a	↑ VEGF	N/D	N/D	N/D
	↑ AgoMir-23a	↑ Proliferación de CEMRH	N/D	N/D	N/D
Yang Y, Liu Y, et al.	↓ miR-15b	↑ VEGF	(r= -0,13, p<0,05)	0,58 IC 95% (0,43-0,79) #	
	↑ miR-15b mimético	↓ VEGF	N/D	N/D	N/D
		↓ Proliferación de CEMRH	N/D	N/D	N/D
Zampetaki A, et al.	↓ miR-27b	/	N/D	0,78 (IC 95% [0.57-1.07] p=0,124#)	N/D
	↑ miR-320a	/	N/D	1.43 IC 95 [1,05-1,94] p=0,021#	N/D
	↑ miR-27b mimético	↓ TSP-1	N/D	N/D	N/D
		↓ SEMA6A.	N/D	N/D	N/D
	↑ miR-320a mimético	↓ TSP-1	N/D	N/D	N/D
Shao J, Fan G, et al.	↑ miR-223-3p	/	N/D	N/D	AUC RDP vs GC 0,896. AUC RDNP vs GC 0,873
	↑ miR-223-3p mimético	↑ Proliferación de CERH	N/D	N/D	N/D
Pastukh N, et al.	↑↓ miR-122	↓ UFC-CEP	r= + (N/D), p=0,13	N/D	N/D

