



**Universidad  
de Navarra**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Estudio multicéntrico del marcador genético *rs12536657* del gen *HGF* y  
parámetros biométricos oculares en niños hipermétropes respecto a  
adolescentes y adultos jóvenes emétropes.**

**TESIS DOCTORAL**

**ELVIRA BONET FARRIOL**

Departamento de Oftalmología, Clínica Universidad de Navarra

Laboratorio de Oftalmología Experimental, Universidad de Navarra

Pamplona 2019

A mi padre, que desde el cielo le gustará leerla.

A Javier, por estar siempre a mi lado apoyándome.

El presente trabajo titulado

**“Estudio multicéntrico del marcador genético *rs12536657* del gen *HGF* y parámetros biométricos oculares en niños hipermétropes respecto a adolescentes y adultos jóvenes emétopes”**

Presentado por

**Elvira Bonet Farriol**

para aspirar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía, ha sido realizado bajo mi dirección, en el Departamento de Oftalmología de la Clínica Universidad de Navarra y en el Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Universidad de Navarra.

Revisado el texto, estoy conforme con su presentación para ser juzgado.

Dr. Jesús Barrio-Barrio

Dra. Ana Patiño García

## **AGRADECIMIENTOS**

Posiblemente este sea uno de los apartados más complicados de escribir. Me vienen a la cabeza muchas personas que, a lo largo de estos años, me han ayudado a sacar adelante esta tesis.

En primer lugar, quiero agradecer de manera especial al Dr. Jesús Barrio, director de la tesis, todo el trabajo que ha llevado a cabo en estos años a pesar de sus 2 baches de enfermedad que ha superado airoosamente. Ha sido para mí un gran ejemplo de vida y de superación. También agradecerle el haberme contagiado a disfrutar trabajando con niños y el enseñarme tantas cosas de la oftalmopediatría que, a día de hoy, sé gracias a él.

A la Dra. Ana Patiño, codirectora, por la confianza depositada en mí, por su paciencia en repetirme y explicarme las cosas una y mil veces. Y agradecerle su agilidad en resolver siempre todos los problemas que me han surgido.

Al Dr. Javier Moreno, director del departamento, por ayudarme tanto y en todo desde el primer día que entré en la Clínica Universitaria. Agradecerle el haberme enseñado tantos conceptos de oftalmología en la consulta (solo ves lo que miras solo buscas lo que sabes) y tantos consejos para la vida en los pasillos. Muchas gracias por estar tan cerca siempre que lo he necesitado.

También quiero mostrar mi agradecimiento más sincero y desde el recuerdo más entrañable, a todos mis compañeros residentes del Departamento de Oftalmología de la Clínica Universidad de Navarra, por la buena disposición que siempre han tenido para ayudarme en estos años que hemos compartido juntos: Natalia, Elisa, Alfonso, Álvaro, Manuel y Belén. También a los adjuntos del departamento por el apoyo mostrado en diversas situaciones, a lo largo de estos cuatro años: Ángel, Alfredo, Adriano y Luis. Una mención muy especial a mis compañeras las enfermeras: María, Elena y Amalia; y a las auxiliares: Isabel, Sara, Maika y Nati por su colaboración en este estudio.

Un agradecimiento especial a todas las personas que forman parte del equipo del Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Universidad de Navarra: Sergio, Laura, Vanessa, Edurne y Maite por haberme enseñado, con tanta paciencia, a hacer las PCR y todo el manejo del material de laboratorio. También al Laboratorio de Pediatría, que me ayudaron a hacer una parte importante de la tesis. Gracias por ayudarme y dedicarme vuestro tiempo.

No quiero olvidar a todas las personas que trabajan en la Facultad de Medicina, en especial a Virginia Sobrini, que siempre ha resuelto mis múltiples dudas con mucha paciencia y me ha hecho muy fácil todos los trámites desde la distancia.

De igual forma, agradezco a Marta García Granero por su orientación, al principio de la tesis, en materia estadística y manejo de los datos.

Quiero recordar especialmente a mi padre, que falleció hace 2 años, al que le hubiera encantado estar presente en esta defensa. Él me enseñó, entre muchas cosas, a ser constante en el trabajo. A mi madre por estar de manera incondicional a mi lado. A mis hermanos, cuñados y suegros por su apoyo constante.

Y finalmente agradecerle, de manera muy especial, a mi marido Javier por todo su gran apoyo desde el primer día. En su constante ánimo, en las épocas no tan buenas, y su ayuda en el tema informático; en estar con nuestras hijas para que pudiera hacer la tesis en un sinfín de ocasiones, nada habría sido posible sin su apoyo. ¡Muchas Gracias Javito! Y a Lola y Sofía, mis hijas, darles las gracias por su alergría diaria que me ha impulsado a seguir adelante.

## **ABREVIATURAS**

## ABREVIATURAS

ACA	Ángulo de cámara anterior
ADN	Ácido desoxirribonucleico
BIOM	Mediciones del IOL Master
D	Dioptrías
ECA	Espesor corneal apical
EE	Equivalente esférico
GCC	Grosor corneal central
HGF	Factor de crecimiento hepatocitario
HWE	Equilibrio de Hardy-Weinberg
Kcurva	Queratometría curva anterior
Kmedia	Queratometría media anterior
Kplana	Queratometría plana anterior
LA	Longitud axial
LD	Desequilibrio de ligamiento
MET	Receptor del factor de crecimiento de hepatocitos
OR	Odds Ratio
OD	Ojo derecho
OI	Ojo izquierdo
PCA	Profundidad de cámara anterior
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SE	Equivalente esférico
TOP	Mediciones del topógrafo
WW	Diámetro blanco-blanco



## ÍNDICE

## ÍNDICE

<b>1. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>16</b>
2.1. Emotropía y ametropía .....	17
2.2. Proceso de emetropización .....	22
2.2.1. Factores genéticos que influyen en el proceso de emetropización .....	28
2.3. El fracaso de la emetropización: los defectos refractivos .....	30
2.3.1. Epidemiología de los defectos refractivos en la infancia .....	30
2.3.2. Clasificación y clínica de los defectos refractivos .....	34
2.3.2.1. Miopía .....	34
2.3.2.2. Astigmatismo .....	35
2.3.2.3. Hipermetropía .....	36
2.3.2.3.1. Definición y concepto .....	36
2.3.2.3.2. Tipos de hipermetropía y características biométricas .....	37
2.3.2.3.3. Clínica .....	38
2.3.2.3.4. Complicaciones y morbilidad .....	39
2.3.3. Factores que influyen en los defectos refractivos .....	41
2.3.3.1. Factores genéticos .....	41
2.3.3.2. Factores ambientales .....	42
2.3.4. Herencia de los factores refractivos .....	44
2.4. Gen <i>HGF</i> .....	46
2.4.1. Funciones del gen .....	46
2.4.2. <i>HGF</i> y patologías oculares .....	48
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	<b>51</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>53</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>55</b>
5.1. Diseño del estudio .....	56
5.2. Selección de la muestra .....	56

5.2.1. Criterios de inclusión .....	57
5.2.2. Criterios de exclusión .....	58
5.3. Protocolo clínico .....	58
5.4. Métodos de laboratorio .....	59
5.5. Método estadístico .....	61
5.5.1. Variables estudiadas .....	61
5.5.2. Cálculo del tamaño muestral .....	62
5.5.3. Test estadísticos .....	62
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>65</b>
6.1. Resultados descriptivos .....	66
6.2. Resultados genéticos .....	72
6.2.1. Análisis de la asociación de los genotipos rs12536657 con la hipermetropía..	72
6.2.2. Análisis de la asociación de los genotipos rs12536657 con los rasgos cuantitativos biométricos y topográficos .....	74
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>81</b>
7.1. Situación actual en el tema de la hipermetropía .....	82
7.2. Consideraciones sobre la metodología de nuestro estudio .....	83
7.3. Asociación del SNP rs12536657 con la hipermetropía .....	86
7.4. Asociación SNP rs12536657 con parámetros cuantitativos oculares .....	86
7.5. Otras asociaciones genéticas con la hipermetropía .....	90
7.6. Otras asociaciones genéticas con la curvatura corneal .....	92
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>94</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>96</b>
<b>10. APÉNDICE .....</b>	<b>107</b>
10.1. “HGF- rs12536657 and ocular biometric parameters in hyperopic children, emmetropic adolescents, and young adults: a multicenter quantitative trait study”. Journal of Ophthalmology (2018) .....	108
10.2. Consentimiento Informado .....	120

## **JUSTIFICACIÓN**

## 1. JUSTIFICACIÓN

Los errores refractivos son la principal causa de pérdida visual tratable y de ceguera, afectando a dos billones de personas en el mundo <sup>1,2</sup>. La prevalencia de los errores refractivos está aumentando mundialmente, siendo en los países occidentales del 10% para la hipermetropía y del 20 al 25% para la miopía.

La hipermetropía es mucho más frecuente en la población infantil y es precisamente en esta población en la que tiene mayor morbilidad asociada, concretamente el estrabismo y la ambliopía. La incidencia de la ambliopía es del 4% en la población general, constituyendo la principal causa de discapacidad visual en niños, y pudiendo llegar a la pérdida irreversible de la visión si no es tratada antes de la finalización del desarrollo visual.

Por otra parte, los errores refractivos están causados por una interacción compleja entre los factores genéticos y ambientales, y por tanto, se consideran poligénicos y multifactoriales <sup>3</sup>. Aunque el estado refractivo parece presentar un componente altamente hereditario y estar bajo un estricto control genético, la identificación de los genes de susceptibilidad hasta ahora ha sido difícil, y la mayoría de *loci* genéticos encontrados se encuentran asociados con la miopía y muy pocos con la hipermetropía.

El gen *HGF* (factor de crecimiento hepatocitario) fue uno de los primeros genes candidatos estudiados en relación con los errores refractivos. La primera asociación genética positiva para la hipermetropía se publicó en el 2010. Veerappan encontró una asociación entre los SNPs (single nucleotide polymorphism) rs12536657 y rs5745718 del gen *HGF* con la hipermetropía en un estudio de casos y controles en una población adulta australiana <sup>4</sup>.

El principal objetivo de nuestro estudio consiste en analizar si efectivamente existe una asociación entre los polimorfismos descritos por Veerappan y la hipermetropía en una población pediátrica. Si estos hallazgos se confirmaran, éste sería un primer paso para poder diagnosticar y tratar precozmente esta alteración del proceso de emetropización que conlleva tanta morbilidad en la población pediátrica. La extracción del material genético, [ADN (ácido desoxirribonucleico)] se llevó a cabo mediante raspado de la mucosa bucal ya que es la forma menos invasiva de recoger material genético y posteriormente se realizó el análisis de los polimorfismos del gen *HGF*.

Por otra parte, realizamos un estudio de rasgos cuantitativos con el fin de evaluar la asociación de la variante del gen *HGF* rs12536657 con mediciones oculares biométricas y diferentes parámetros corneales obtenidos mediante análisis topográfico, comparando una población de niños hipermétropes frente a emétropes jóvenes y adultos.

## **INTRODUCCIÓN**

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1. Emetropía y ametropía

El ojo humano se considera un sistema óptico positivo o convergente, que forma imágenes invertidas del mundo externo sobre la capa sensible de la retina, situada en el fondo del globo ocular <sup>5</sup>.

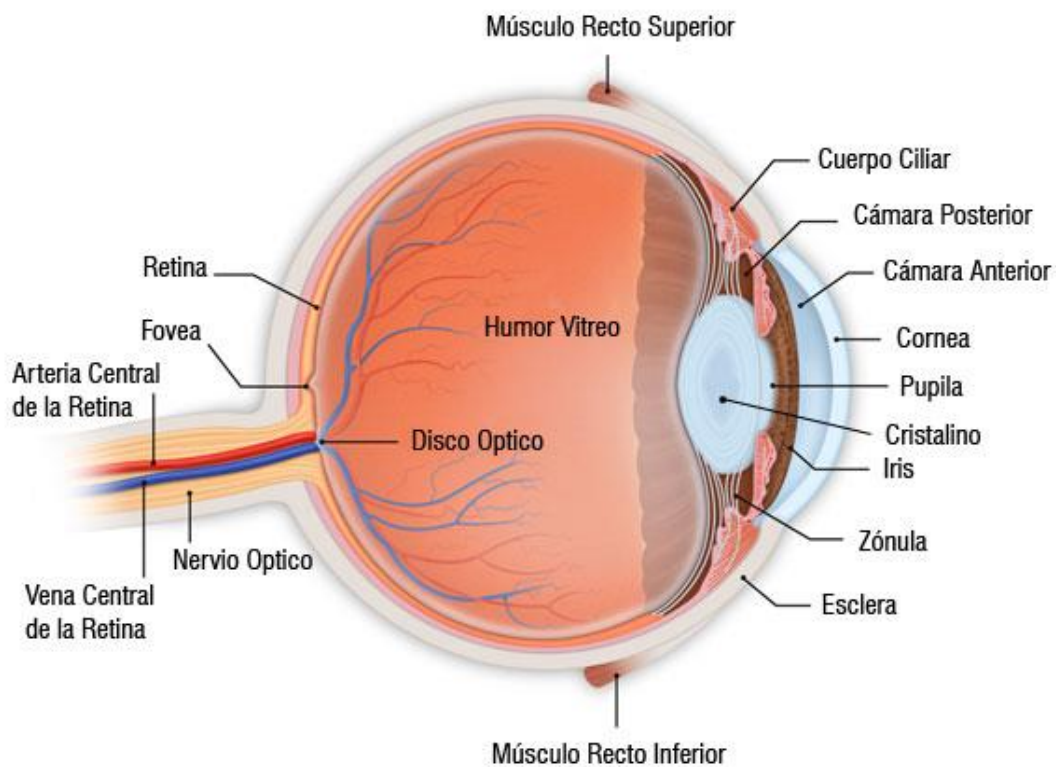
La estructura del ojo humano se divide en tres partes:

- La capa externa está formada por la esclera en su porción posterior, y la córnea en la parte anterior, con una mayor curvatura que el resto del globo, a través de la cual entra la luz. La córnea es transparente y prácticamente esférica, con un radio de curvatura de aproximadamente 8 mm. La esclera es un tejido fibroso denso, blanco y opaco que tiene una función principalmente protectora y es casi esférica, con un radio de curvatura aproximado de 12 a 13 mm.
- En la capa media del ojo se encuentra la úvea, en la que se diferencian el iris en la parte anterior, la coroides en la parte posterior, y el cuerpo ciliar en la parte intermedia. El iris tiene una importante función óptica al regular el tamaño de su apertura y el cuerpo ciliar es importante para el proceso de la acomodación.
- Y por último, la capa interna del ojo es la retina, que es una extensión del sistema nervioso central y está conectada con el cerebro por el nervio óptico <sup>6</sup>.

Estas estructuras dividen el ojo en tres compartimentos distintos (Figura 1):

- La cámara anterior, entre la córnea y el iris, que contiene el humor acuoso.
- La cámara posterior, entre el iris, el cuerpo ciliar y el cristalino, que contiene también humor acuoso.
- La cámara vítrea, entre el cristalino y la retina, que contiene una masa gelatinosa, transparente e incolora llamada humor o cuerpo vítreos.



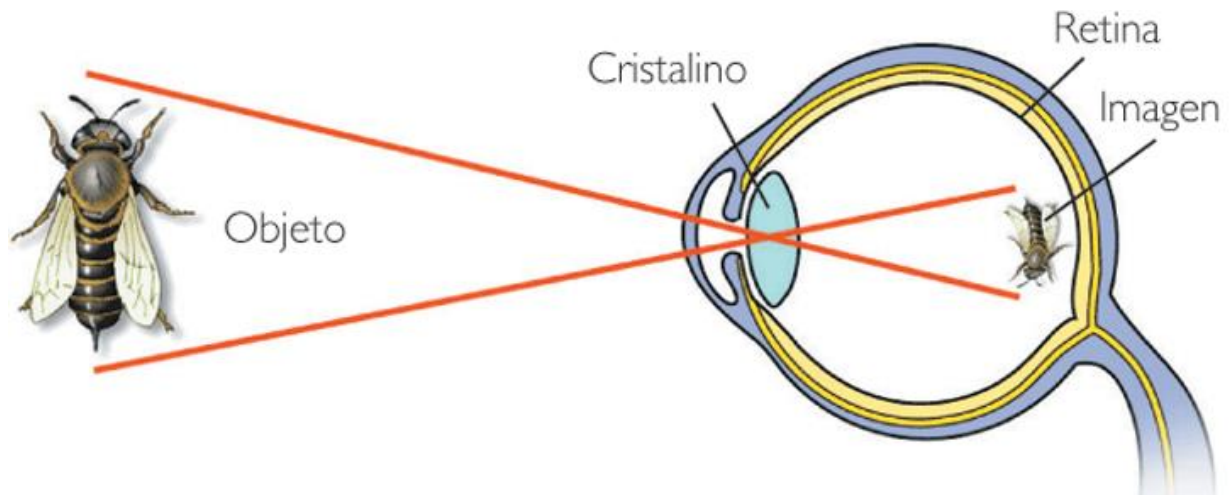


**Figura 1.** Estructura del ojo humano.

En el ojo se pueden diferenciar dos tipos de ejes: el eje óptico y el eje visual. El eje óptico se define generalmente como la línea que une los centros de curvatura de las superficies refractivas. En la fovea es dónde se forma la imagen del punto de fijación, alrededor del cual se ordenan todos los objetos del campo visual. Sin embargo, la fovea no suele estar situada en la intersección de la retina con el eje óptico, sino desplazada hacia abajo aproximadamente 1,25 mm por el lado temporal. Por lo tanto, cuando miramos un objeto no lo hacemos directamente a lo largo del eje óptico sino a lo largo de una línea que une el objeto o punto de fijación con la fovea y que se denomina eje visual.

Los principios de formación de la imagen en el ojo son los mismos que los de un sistema óptico convencional (Figura 2). La luz entra en el ojo a través de la córnea para ser enfocada en la retina después de ser refractada en la córnea y en la lente del cristalino. La luz se refracta de forma muy acentuada en la superficie corneal anterior debido a que la parte esférica central tiene una curvatura muy picuda. A continuación, la luz se vuelve a refractar cuando alcanza la cara anterior y posterior del cristalino. Se deduce que la mayor parte de la refracción ocular tiene lugar en la

superficie anterior de la córnea, cuyo poder refractivo [unas 40-45 dioptrías (D)] es más del doble del que posee el cristalino (alrededor de 20 D). El diámetro del haz de luz incidente se controla mediante el iris, que forma el diafragma del ojo. La abertura en el iris se llama pupila. Como ocurre en todos los sistemas ópticos, el diafragma es un componente muy importante del sistema que afecta a un amplio rango de procesos ópticos <sup>7</sup>.



**Figura 2.** Principios de la formación de la imagen.

Sin embargo, una característica muy importante del cristalino es que su potencia puede cambiar cuando el ojo necesita acomodar a diferentes distancias gracias al proceso de acomodación. La acomodación está sometida a un control por retroalimentación, en el que la magnitud de ajuste es la nitidez de la imagen retiniana.

Los distintos elementos que influyen en el proceso de acomodación son:

1. Cristalino: adopta una forma plana cuando miramos de lejos y se abomba cuando miramos objetos que están situados cerca.
2. Fibras de la zónula: se insertan en toda la circunferencia del ecuador del cristalino y unen el cristalino con el cuerpo ciliar. De este modo, el cristalino se mantiene en posición estable y se transmiten las tracciones del músculo ciliar sobre el cristalino.
3. Músculo ciliar: la contracción del músculo ciliar, de forma anular, disminuye la tensión en las fibras de la zónula. Debido al cambio de forma se produce un aumento del poder de refracción y los objetos de cerca se ven con nitidez. Con la relajación del músculo ciliar se refuerza la tracción sobre el cristalino y éste se aplana consiguiendo ver con nitidez los objetos planos.

En un ojo relajado enfocado al infinito, la potencia equivalente del cristalino es aproximadamente 19 D. En un ojo acomodando a un punto a 10 cm de la córnea, la potencia del cristalino es aproximadamente de 30 D. Para el ojo relajado, el nivel de acomodación es cero, pero la potencia del ojo es aproximadamente 60 D. Aunque el nivel de acomodación y el incremento en la potencia del cristalino no son lo mismo, son variables que están muy relacionadas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Poder de refracción (D) de los elementos oculares según la acomodación del ojo <sup>8</sup>.

	Sin acomodación	Acomodación
<b>Índice de refracción corneal</b>	1,37 D	1,37 D
<b>Índice de refracción del cristalino</b>	1,38 D	1,38 D
<b>Radio de curvatura de la superficie anterior de la córnea</b>	7,7 mm	7,7 mm
<b>Radio de curvatura de la superficie anterior del cristalino</b>	10,0 mm	5,33 mm
<b>Poder de refracción de la córnea</b>	43,05 D	43,05 D
<b>Poder de refracción del cristalino</b>	19,11 D	33,06 D
<b>Poder de refracción del total del sistema óptico</b>	58,64 D	70,57 D

Helmholtz concluye, tras varios estudios, que la relajación de la zónula permite que ambas superficies del cristalino, y especialmente la anterior, adopten una forma más curvada, engrosando el cristalino en el centro y desplazándose la superficie frontal ligeramente hacia delante <sup>9</sup>.

Generalmente se asume que un ojo normal debería estar enfocado al infinito cuando la acomodación está relajada. Este ojo se denomina emétrope. Así, emetropía significa etimológicamente "ojo dentro de la medida". En este ojo, los rayos paralelos de luz procedentes de un objeto lejano se refractan y convergen sobre la retina, permitiendo que los objetos lejanos se vean nítidamente ya que el punto focal coincide con la fovea. Ametropía significa "ojo fuera de la medida". En este caso, estando la acomodación relajada, los rayos paralelos de luz procedentes del infinito no se enfocan sobre la retina, sino en un foco por delante o por detrás de ella. Se dice que los ojos amétropes tienen un error de refracción, ya que la causa es un

defecto óptico y no un defecto funcional. El error refractivo se puede considerar como un error en la potencia debido a un desajuste entre la potencia equivalente y la longitud del ojo <sup>7</sup>.

Las ametropías se dividen en dos categorías principales según el tipo de lente que necesitan para ser corregidas: ametropías esféricas y no esféricas o astigmatismo.

- En las ametropías esféricas el sistema refractivo del ojo es simétrico alrededor de su eje óptico y el error refractivo es el mismo en todos los meridianos. Cuando el foco imagen del sistema óptico del ojo se encuentra detrás de la retina el proceso se llama hipermetropía y cuando el foco imagen está delante de la retina, el proceso se denomina miopía.
- En las ametropías no esféricas los rayos de luz paralelos que inciden en el ojo no son refractados por igual en todos los meridianos de éste y la potencia refractiva del ojo varía en los diferentes meridianos. La forma que toma el haz de luz cuando pasa a través de una córnea con astigmatismo se conoce como el conoide de Sturm.

Las ametropías también se pueden clasificar según la longitud axial del ojo.

- En la miopía, el ojo posee un poder óptico excesivo para su longitud axial. En el ojo miope (con la acomodación en estado de relajación) los rayos lumínicos procedentes de un objeto situado en el infinito convergen demasiado pronto y, por tanto, quedan enfocados delante de la retina, derivado en una imagen desenfocada sobre ella.
- En el ojo hipermetrope (con la acomodación en estado de relajación), un objeto situado en el infinito enfocará su luz detrás de la retina, lo que da lugar una vez más a una imagen desenfocada sobre ella.

Dentro de las ametropías, los miopes tienden a tener longitudes axiales más largas y mayores potencias corneales que los emétopes, mientras que lo contrario se ha demostrado para los hipermétropes.

## 2.2. Proceso de emetropización

Si se comparan los errores refractivos de la población infantil con los de la población adulta éstos no son estáticos. Existen, por tanto, grandes diferencias entre ambas poblaciones y esto pone de manifiesto que el ojo sufre diversos cambios a lo largo de la vida, afectando de manera directa a la refracción del ojo <sup>10</sup>. Este fenómeno se debe a un mecanismo aún sin determinar llamado emetropización.

El proceso de emetropización, durante el cual los componentes refractivos se modifican de manera coordinada conforme crece el ojo, da como resultado final un sistema óptico definido por la emetropía en la cual una imagen nítida queda enfocada en la retina. Dicho proceso se inicia en el primer año de vida <sup>11</sup> y se detiene entre los 13-18 años de edad, momento en que la velocidad de desarrollo de los componentes oculares disminuye <sup>12</sup>.

Se sabe que en la emetropización actúan diversos factores tanto activos como pasivos llegando, con la combinación de ambos, a la emetropía del ojo.

El término emetropización activa hace referencia a que el crecimiento del ojo y la relación que existe entre los componentes de éste, dependen de la experiencia visual que tenga el recién nacido con el entorno que le rodea <sup>13,14</sup>. La alteración de la experiencia visual mediante desenfoque o deprivación ha mostrado que puede afectar, tanto en estudios de animales como de humanos, en el proceso de emetropización. Sin embargo, el mecanismo a través del cual lo hace no se ha dilucidado en su totalidad <sup>10</sup>.

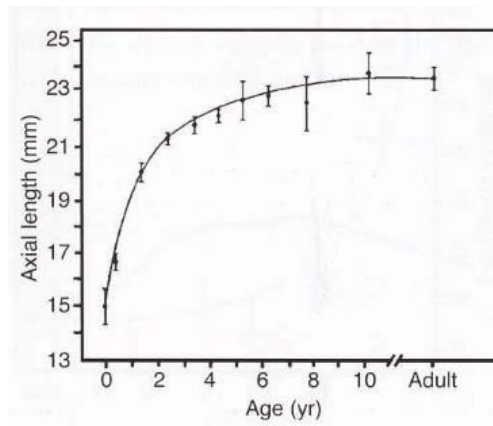
En general se acepta que el crecimiento del ojo está guiado por la visión y controlado a través de una cascada de eventos químicos generados localmente que se inician en la retina y, en última instancia, causan variaciones en la remodelación de la matriz extracelular escleral (ECM) que conducen a cambios en el tamaño y la refracción. Se han identificado unas células en la retina que distinguen la claridad de la borrosidad de las imágenes y son éstas las que liberan un neurotransmisor hacia la retina, coroides y esclera que provocan un ajuste del tamaño del globo ocular. Estas sustancias podrían ser: ácido retinoico, glucagón, dopamina y acetilcolina <sup>15,16</sup>. Tanto en pollos como en mamíferos, la remodelación escleral en respuesta a estímulos visuales se caracteriza por cambios en la síntesis de proteoglicanos y colágeno así como en la actividad de las metaloproteinasas de la matriz extracelular <sup>17</sup>.

Distintos trabajos han demostrado que los ojos de los animales sometidos a deprivación visual presentan un eje antero-posterior más largo comparándolo con el ojo contralateral, que no tiene obstáculos para recibir correctamente los estímulos visuales <sup>18,19,20,21</sup>. Otros autores han concluido que la eliminación de la información visual de manera total, colocando a las musarañas en oscuridad continua, conduce a que los ojos comiencen a alargarse más rápidamente de lo normal y se vuelven miópicos <sup>22</sup>. Por tanto, parece que se necesita la información visual (imágenes en la retina) para modular y controlar la tasa de elongación del ojo.

Las mismas consecuencias se han observado en los ojos de los niños que nacen con opacificaciones corneales <sup>23</sup>, cataratas congénitas <sup>24</sup> o con ptosis palpebral que afecta al eje visual <sup>25</sup>, en los que el estímulo visual se recibe de manera alterada o simplemente está ausente. Estos resultados concuerdan con la hipótesis de que la deprivación visual durante la infancia puede alterar el crecimiento axial del globo ocular.

La emetropización pasiva asume cambios en el tamaño, forma y potencia de los componentes del sistema ocular (la longitud axial, la potencia de la córnea, el grosor del cristalino, la profundidad de la cámara vítrea y la coroides) determinados genéticamente <sup>15</sup> y también según las características físicas del ojo creciente <sup>26</sup>.

El cambio en la longitud axial del ojo se produce en 3 fases. La primera fase es un período de rápido crecimiento en los primeros 6 meses de vida ( $\pm 17$  mm) en la que se produce el mayor crecimiento axial del globo ocular alcanzando dimensiones del ojo adulto aumentando aproximadamente 4-5 mm hasta la edad de 3 años. Durante la segunda fase (3-5 años) y tercera fase (5-13 años), el crecimiento se desacelera; solamente se añade aproximadamente 1 mm de crecimiento en cada una de estas fases. Por lo tanto, a los 13 años, los niños "normales" son emetrópicos, aunque algunos desarrollarán una miopía de aparición más tardía por alargamiento de la longitud axial (Figura 3).



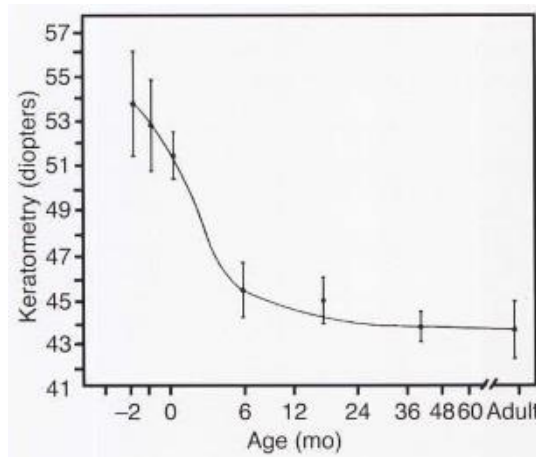
**Figura 3.** Cambio de la longitud axial del ojo con respecto a la edad.

Del mismo modo, el diámetro horizontal de la córnea es de 9,05 mm a 10,05 mm promedio en los recién nacidos, y que aumenta hasta 12 mm en la edad adulta. La mayor parte de este cambio se produce en el primer año de vida. La córnea adelgaza gradualmente pasando de un espesor central 0,96 mm a 0,52 mm alrededor de los 6 meses (Tabla 2).

**Tabla 2.** Comparación de las medidas biométricas entre un recién nacido y un adulto.

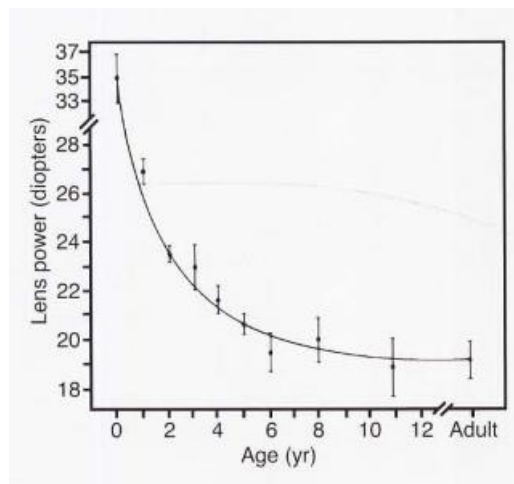
	<b>Recién nacido</b>	<b>Adulto</b>
<b>Longitud axial (mm)</b>	15-17	23-24
<b>Diámetro de la córnea horizontal (mm)</b>	9,5-10,5	12
<b>Radio de curvatura de la córnea (mm)</b>	6,6-7,4	7,4-8,4

La córnea, por tanto, crece rápidamente durante los primeros meses de vida. Los valores de queratometría cambian notablemente en el primer año de vida, a partir de aproximadamente 52 D al nacer, el aplanamiento de 46 D a los 6 meses y llegar a su poder adulto de 42-44 D a los 12 años (Figura 4).



**Figura 4.** Cambio de la queratometría con respecto a la edad.

La potencia de la lente pediátrica disminuye dramáticamente durante los primeros años de vida, un hecho importante para tener en cuenta en niños sometidos a la extracción de cataratas en la lactancia y la primera infancia para el cálculo de la lente intraocular (LIO). El cristalino al nacer cuenta con un poder dióptrico de  $\pm 34,4$  D que va decreciendo durante los 6 primeros meses de vida, alcanzando un valor promedio de  $28,0$  D (Figura 5).

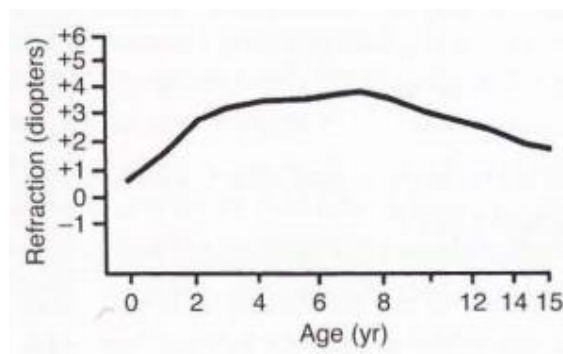


**Figura 5.** Potencia de la lente pediátrica según edad del niño.

El estado refractivo del ojo cambia a medida que aumenta la longitud axial y se aplanan la córnea y el cristalino <sup>27</sup>. En general, los niños son hipermétropes al nacer, y esta hipermetropía aumenta un poco más hasta los 7 años. A continuación, experimentan un cambio miópico o disminución de la hipermetropía en aproximadamente un  $0,006$  D por año hasta que el ojo alcanza las



dimensiones del adulto, que en general es cerca de los 15 años que se sitúa en una hipermetropía menor a +0,50 D. En estos años aparece un considerable aumento de la miopía, que aumenta aproximadamente en -0,50 D por año, hasta alcanzar porcentajes del 15% a los 15 años, frente al 2% a los 6 años. Quizá por ese motivo este tipo de miopía recibe el nombre de miopía escolar <sup>8</sup> (Figura 6).



**Figura 6.** El estado refractivo del ojo según la edad del niño.

Es importante remarcar que después de que los ojos hayan logrado la emetropía, o un estado de refracción casi emétrepe, el mecanismo de emetropización permanece activo en el mantenimiento de dicha emetropía <sup>28</sup>.

Vale la pena señalar que a pesar de que los dos ojos, generalmente, comienzan su vida con refracciones similares, cada ojo contiene un mecanismo de emetropización independiente del ojo contralateral. Sin duda, hay mecanismos centrales (en su mayoría desconocidos) que afectan a ambos ojos <sup>18,29</sup>.

Por tanto, se podría decir que el proceso de emetropización se puede considerar como un mecanismo que trata de minimizar el error de refracción a través del crecimiento coordinado de los elementos de los ojos haciendo que la longitud axial coincida con la longitud focal del ojo y el encontrar un error en este proceso implica el desarrollo de los errores refractivos o ametropías <sup>15</sup>.

Hay múltiples estudios que discuten sobre este tema. Es Gordon el primero que lleva a cabo, en 1985, un estudio transversal para mostrar los cambios progresivos que experimenta el ojo humano <sup>30</sup>. Estudió la longitud axial, el poder queratométrico, la potencia de la lente y el error

refractivo en 158 ojos normales de 79 pacientes que van desde recién nacidos prematuros a adultos de 36 años. El estudio concluye que el aumento de aproximadamente 7 mm en longitud axial desde el nacimiento hasta la edad adulta requiere una reducción de aproximadamente 30 D de potencia de refracción total para mantener así un estado emetrópico. Además, se confirma que el ojo del recién nacido a término tiene una longitud axial media de 16,8 mm, una potencia queratométrica media de 51,2 D (equivalente esférico), y un cristalino de potencia media de 34,4 D. Los valores para adultos (mayores de 15 años) para estas mediciones fueron 23,6 mm, 43,5 D y 18,8 D respectivamente (Tabla 3).

**Tabla 3.** Valores de los distintos componentes del ojo humano de acuerdo con la edad, según los estudios de Gordon.

Edad	N.º ojos	Longitud Axial (mm)	Queratometría (D)	Poder del del cristalino (D)	Error refractivo (D)
<b>30-35 semanas</b>	11	15,1 ± 0,9	53,6 ± 2,5	31,9 ± 0,5	-1,0 ± 0,9
<b>35-39 semanas</b>	14	16,1 ± 0,6	52,6 ± 1,9	28,4 ± 1,1	0,3 ± 1,6
<b>39-41 semanas</b>	10	16,8 ± 0,6	51,2 ± 1,1	27,7 ± 1,6	0,4 ± 1,5
<b>0-1 años</b>	11	19,2 ± 0,7	45,2 ± 1,3	26,4 ± 0,5	0,9 ± 0,9
<b>1-2 años</b>	8	20,2 ± 0,3	44,9 ± 0,9	25,1 ± 0,5	0,3 ± 0,6
<b>2-3 años</b>	8	21,4 ± 0,1	44,1 ± 0,3	22,5 ± 0,2	0,5 ± 0,6
<b>3-4 años</b>	8	21,8 ± 0,4	43,7 ± 0,5	21,7 ± 0,2	0,6 ± 0,2
<b>4-5 años</b>	5	22,3 ± 0,2	43,2 ± 0,7	20,7 ± 0,5	0,7 ± 0,6
<b>5-6 años</b>	9	22,7 ± 0,9	43,7 ± 0,9	19,4 ± 0,5	0,9 ± 1,5
<b>6-7 años</b>	5	22,9 ± 0,4	43,4 ± 0,6	18,6 ± 0,9	1,0 ± 1,1
<b>7-9 años</b>	10	22,6 ± 1,2	44,2 ± 1,6	19,2 ± 0,5	0,6 ± 1,8
<b>10-15 años</b>	7	23,8 ± 0,7	43,5 ± 0,7	18,9 ± 0,3	-0,8 ± 0,9
<b>15-20 años</b>	6	23,8 ± 0,5	43,5 ± 1,1	18,6 ± 0,5	-0,6 ± 1,0
<b>20-36 años</b>	36	23,6 ± 0,7	43,5 ± 1,2	18,8 ± 0,7	-0,5 ± 1,5

Gernet y Olbrich están de acuerdo con Gitter en que el cristalino es responsable de las compensaciones necesarias para mantener la emetropía aunque observan que también la profundización de la cámara anterior y de la córnea tiene un papel muy importante <sup>31</sup>. Por otro lado, Sorsby y colaboradores, proponen que es la curvatura de la córnea la que se reduce de manera pasiva durante el crecimiento del ojo y no apoya la hipótesis de aplanamiento del cristalino como responsable de los cambios compensatorios <sup>32</sup>.

Mutti y colaboradores llevaron a cabo un estudio en el que demostraron, en niños de entre 3 y 9 meses, la correlación que existe entre el aumento de la longitud axial y la disminución de la potencia óptica como factor importante en el desarrollo de la emetropización a lo largo del crecimiento del niño. Un aumento de la longitud axial conduciría a una disminución en el poder de refracción y la potencia del cristalino <sup>33</sup>. Brown y colaboradores corroboran que la disminución de la hipermetropía infantil parece estar asociada con el aumento de la longitud axial. Postulan que el aumento de la longitud axial solo daría lugar a un desplazamiento excesivo hacia la miopía, sin embargo, ésto se compensaría con cambios simultáneos en el cristalino que reducen su potencia durante la infancia. Sugieren que tanto la córnea como el cristalino también podrían ser importantes contribuyentes en el proceso de la emetropización <sup>14</sup>.

Otros autores han demostrado, en modelos animales (monos), que también la coroides juega un papel activo en el proceso de emetropización, tanto por la modulación de su espesor para ajustar la retina hasta el plano focal del ojo, como por la liberación de factores de crecimiento que tienen el potencial de regular la remodelación de la ECM <sup>34</sup>.

Sorsby y colaboradores <sup>32</sup> encontraron que los valores medios de los componentes ópticos de los niños de 13 a 14 años de edad no eran diferentes de los de los jóvenes masculinos adultos 19 a 22 años de edad, por tanto, llegaron a la conclusión de que el ojo no crece sensiblemente más allá de la edad de 13 a 14 años.

### **2.2.1. Factores genéticos que influyen en el proceso de emetropización**

Los factores que determinan los errores refractivos son el índice de refracción, la curvatura de la córnea y del cristalino, y la posición relativa de la retina. Sin embargo, de todas las variables potenciales que afectan a la refracción, la longitud axial y la curvatura de la córnea son las

principales <sup>35</sup>. Hay que tener en cuenta que la longitud axial representa alrededor del 50% de la variación del equivalente esférico <sup>36</sup>.

Zhu y colaboradores afirmaron que la longitud axial es altamente heredable y es probable que esté influenciada por uno o más genes en 5q <sup>37</sup>. En este sentido, Sorsby sugirió que el desarrollo de las altas ametropías es el resultado de la herencia de una anomalía en uno de los componentes oculares, por lo general, en la longitud axial <sup>38</sup>.

Hay un tema importante que todavía está sin resolver, no hay datos suficientes sobre si la longitud axial cambia únicamente debido a los factores genéticos; ya que el crecimiento ocular está modulado además por el mecanismo de emetropización guiado por los estímulos visuales.

Se sabe que existen diferentes genes que participan en el crecimiento del globo ocular. Davis-Silberman y colaboradores describen el gen de caja emparejada 6 (*PAX6*) como esencial para el desarrollo temprano del ojo <sup>39,40</sup>.

Chen y colaboradores <sup>41</sup> estudiaron la asociación entre parámetros biométricos oculares y polimorfismos de nucleótido único (SNPs) de tres genes asociados con la miopía: el marcador rs634990 del gen proteína delta-2 de la unión Gap (*GJD2*) situado en el cromosoma 15, rs6214 del gen factor de crecimiento de la insulina (*IGF1*) situado en el cromosoma 12 y rs3735520 del gen factor de crecimiento hepatocitario (*HGF*) situado en el cromosoma 7. El estudio se llevó a cabo en 794 individuos chinos no relacionados con edades superiores a 50 años en dos cohortes con distinta geografía de China (362 residentes del interior y 432 habitantes de las islas). La asociación genética con los parámetros biométricos oculares se analizaron en cohortes individuales, mediante regresión lineal ajustada por edad y sexo. El metaanálisis mostró las asociaciones comunes entre las dos cohortes. Se detectó una asociación entre el gen *GJD2* (rs634990) y el espesor corneal central (tan solo en una de las dos cohortes del estudio) y no se observó asociación con ningún otro parámetro biométrico. El gen *HGF* (rs3735520) mostró efectos en el equivalente esférico negativo y en mayor longitud axial de tan solo una de las cohortes. El metaanálisis no identificó asociación, pero sí se encontró asociación significativa con una mayor profundidad de la cámara vítrea en las dos cohortes.

El gen *HGF* está probablemente involucrado en el desarrollo del segmento posterior del ojo. La interacción entre los genes *HGF* y *GJD2* se asoció con la longitud axial y la profundidad de la cámara vítrea. Estos resultados proporcionan nueva información en el papel funcional de estos genes de susceptibilidad en la etiología de la miopía y del desarrollo ocular <sup>42</sup>.

Lam y colaboradores afirman que la esclera juega un papel clave en el mantenimiento de la longitud axial y la profundidad de la cámara vítrea y por tanto es un factor importante que contribuye a la progresión de la miopía <sup>43</sup>. Jobling y colaboradores observaron una reducción de la expresión del factor de crecimiento transformante beta (*TGFβ*) en la esclera en un modelo animal miopes (inducidos experimentalmente), lo que sugiere un papel importante en la regulación de la remodelación escleral durante el desarrollo de la miopía <sup>44</sup>.

Es conocido que el crecimiento del ojo está regulado a nivel local por señales producidas en la retina. Hasta ahora, los mensajeros liberados por la retina para inducir estos cambios eran, en gran parte, desconocidos. Diferentes autores han demostrado, a través de estudios en pollos, que las células amacrinias de la retina expresan y/o liberan numerosos marcadores bioquímicos que intervienen en la modulación del crecimiento ocular <sup>45</sup>.

### **2.3. El fracaso de la emetropización: los defectos refractivos**

#### **2.3.1. Epidemiología de los defectos refractivos en la infancia**

A nivel mundial, los defectos de refracción son considerados como la principal causa de discapacidad visual tratable <sup>46</sup> y la segunda causa de ceguera, afectando a dos billones de personas en el mundo, siendo la catarata la primera causa de ceguera curable <sup>2,47</sup>. La hipermetropía y la miopía constituyen los principales errores refractivos, siendo el astigmatismo el tercero. La prevalencia de los errores refractivos está aumentando en todo el mundo, siendo para la hipermetropía del 10% y para la miopía en torno al 20 o 25% en los países occidentales (Estados Unidos, Europa y Australia) <sup>48,49,50</sup> pero son mucho más altas las tasas de miopía, en el sudeste de Asia (Taiwan, Hong Kong, Singapur) <sup>51,52,53</sup>.

Es conocido que la visión juega un papel vital en la interpretación del mundo de un niño y que la deficiencia de esta capacidad afecta gravemente a su desarrollo tanto físico como emocional <sup>54,55</sup>. Se ha estudiado mucho sobre la refracción y la acomodación del niño. Cierta evidencia indica que las refracciones neonatales predicen las refracciones de la infancia. Sólo una pequeña proporción de lactantes son miopes al nacer, y gran parte de esta miopía neonatal se asocia con prematuridad <sup>56,57</sup>. La hipermetropía fisiológica leve es el estado refractivo más común entre

neonatos y lactantes <sup>33,58</sup>. La proporción de niños con hipermetropía disminuye a causa del proceso de emetropización a partir de los 6 meses de edad en todas las etnias <sup>59,60</sup>.

Tanto Jialiang Zhao como Mingguang aseguran que la disminución de la visión debido a la miopía es un problema de salud pública importante en la edad escolar (5 a 15 años) de los niños en China (5.884 niños en Shunyi y 4.364 niños en Guangzhou respectivamente) <sup>54,61</sup>. En este estudio se confirma que más del 94% de los niños visitados por pérdida de visión se debía a un defecto refractivo, el 1,9% a ambliopía y el 0,4% a otras causas. Una tercera parte de estos niños no tienen las gafas correctoras necesarias. La prevalencia de la miopía (EE de al menos -0,50 D) fue del 3,3% en los niños con 5 años y del 73,1% de los niños de 15 años. La prevalencia de hipermetropía (+2,00 D) era del 16,7% de los 5 años y por debajo del 1% en los 15 años. El astigmatismo (cilindro de +/- 0,75 D) estaba presente en el 33,6% de los niños. Afirman que las niñas tienen un riesgo significativo mayor de padecer errores refractivos, tanto miopía como hipermetropía, en comparación con los niños. En otros estudios se corrobora que más del 80% de los niños chinos padecen miopía <sup>62,63</sup>.

Ingram y Barr presentaron un estudio longitudinal valorando los defectos refractivos en 148 niños del Reino Unido. Las mediciones se llevaron a cabo con gotas ciclopléjicas. Entre el primer y tercer año y medio de vida la prevalencia de la miopía disminuía y la prevalencia de emetropía aumentaba, ya que la miopía de los niños con 1 año se convierte en hipermetropía. Los niños que presentaban entre +1,00 D y +2,25 D tendían a la disminución de la hipermetropía llegando a la emetropía. Algunos niños con +2,50 D o más llegaban a tener más graduación de hipermetropía <sup>64</sup>.

En el año 2003 se llevó a cabo el estudio CLEERE (*Collaborative Longitudinal Evaluation of Ethnicity and Refractive Error*) multicéntrico, longitudinal y observacional en 2.523 niños de entre 5 a 17 años de edad de 4 grupos étnicos distintos (534 africanos, 491 de Asia, 463 hispanos y 1.035 blancos) en quienes se estudiaba la prevalencia de los errores refractivos y el desarrollo ocular <sup>65</sup>. La miopía se definió como  $\leq -0,75$  D, la hipermetropía como  $\geq +1,25$  D y el astigmatismo como al menos una diferencia de 1,00 D entre los 2 meridianos principales. En la miopía, los asiáticos tuvieron la mayor prevalencia (18,5%), seguidos por los hispanos (13,2%). En la hipermetropía, los blancos tenían la mayor prevalencia (19,3%), seguidos por los hispanos (12,7%). En el astigmatismo, los asiáticos y los hispanos tuvieron la prevalencia más alta (33,6% y 36,9% respectivamente) y no difirieron entre sí. Se pudo concluir que no existían diferencias

significativas en la prevalencia del error de refracción en función del origen étnico, incluso después de controlar por edad y sexo. En el estudio, se plantea la importancia de fijar el valor numérico de dónde parte la definición de los defectos refractivos, ya que los resultados se pueden ver modificados según la graduación que se coja como punto de corte.

En el 2009 se llevó a cabo un trabajo transversal a raíz del estudio OLSM (*Orinda Longitudinal Study of Myopia*) para analizar los componentes oculares de 4.881 niños en función de la edad, el género y el origen étnico. Todos los pacientes fueron examinados usando autorrefracción cicloplejia, queratometría, ecografía y curvatura del cristalino. La edad media de los pacientes que participaron fue de  $8,8 \pm 2,3$  años (50,3 % niñas). El 17% eran afroamericanos, el 14,8% eran asiáticos, el 22,9% eran hispanos, el 11,6% eran americanos nativos y el 34,9% eran de raza blanca. La mayoría de los componentes oculares mostraron una variación clínicamente poco significativa según el origen étnico. En los pacientes norteamericanos se vio que la cámara anterior y la cámara vítrea eran profundas y se compensaban con unas córneas más planas. En los niños blancos se veía una cámara anterior profunda con una cavidad vítrea de profundidad moderada que se compensaban con córneas más curvas. Los niños asiáticos tenían defectos de refracción con equivalentes esféricos miopes, tienden a desarrollar ojos más largos y ojos miopes con más frecuencia que otros grupos étnicos.

La Tabla 4 muestra los resultados de la prevalencia decreciente de la hipermetropía y el concomitante aumento de la prevalencia de la miopía con el aumento de la edad escolar en niños blancos según distintos estudios.

**Tabla 4.** Prevalencia de los defectos refractivos en niños blancos.

<b>Autor</b>	<b>Método</b>	<b>N</b>	<b>Edad</b>	<b>Prevalencia de hipermetropía</b>	<b>Prevalencia de miopía</b>
<b>Laatikainen</b> <sup>66</sup>	Ciclopléjico 1%	822	7-15	$\geq +2,00$ D	$\leq -0,50$ D
		162	7-8	19,1%	1,9%
		218	9-10	6,9%	6,4%
		222	11-12	11,7%	7,2%

		220	14-15	3,6%	21,8%
<b>Blum</b> <sup>67</sup>	Retinoscopia	1163	5-15	≥ +1,50 D	≤ -0,50 D
			5-10	6%	2-8%
			11-15	6%	10,5-15%
<b>Hirsch</b> <sup>68</sup>	Retinoscopia	605	13-14	11,4% (> +1,00 D)	15,2% (≤ -0,50 D)
<b>Kempf</b> <sup>69</sup>	Atropina	1829	6-12	> +1,00	≤ -0,75 D
		333	6-8	35,4%	1,2%
		495	9-11	25,2%	3,4%
		1001	≥12	15,2%	4,8%

Mohindra y colaboradores demuestran que los infantes (6 meses a 3 años) en comparación con los niños de edad escolar muestran diez veces mayor riesgo de presentar astigmatismo clínicamente significativo, que comienza a disminuir en el segundo semestre de vida y disminuye durante el tercer año <sup>70,71</sup>.

Abrahamsson y colaboradores estudiaron los cambios del astigmatismo en 299 lactantes suecos durante su desarrollo entre el 1º y 4º año de vida. Todos los niños presentaban un astigmatismo de ≥ 1,0 D en al menos uno de los ojos. La refracción ciclopléjica fue seguida longitudinalmente a intervalos anuales. Durante el desarrollo no hubo una disminución en el grado de hipermetropía, pero hubo un descenso significativo de la cantidad de astigmatismo durante los cuatro años de seguimiento. La disminución más pronunciada en magnitud y en incidencia de astigmatismo se produjo entre el primero y el segundo año de vida. La mayoría de los ojos astigmáticos de los bebés de 1 año de vida tenían una curvatura horizontal (180°) mayor que la vertical (astigmatismo en contra de la regla), y no se observaron cambios en el eje del astigmatismo durante los años siguientes <sup>72</sup>.

La prevalencia del astigmatismo clínicamente significativo disminuye al aumentar la edad de escolarización según todos los métodos de medición (Tabla 5) <sup>73,74</sup>.

**Tabla 5.** Prevalencia del astigmatismo en función de la edad según diferentes autores.

Autor	Método	N	Edad	Prevalencia de astigmatismo ≥ 1,00D
<b>Dobson</b> <sup>75</sup>	Ciclopléjico	746	2-9 años	11-50%



<b>Howland</b> <sup>76</sup>	Refracción	220	1,5-4,5 años	10-42%
<b>Gwiazda</b> <sup>77</sup>	Retinoscopia	479	1-6 años	18-43%

La asociación del defecto refractivo con el sexo ha sido motivo de controversia en los distintos estudios realizados en niños entre 5 a 15 años. Aunque algunos estudios han encontrado que tanto la miopía <sup>61,54,78</sup> como la hipermetropía <sup>79,80</sup> son más comunes en las niñas que en los niños, otros estudios no han encontrado ninguna diferencia <sup>81,82</sup>.

### **2.3.2. Clasificación y clínica de los defectos refractivos**

#### **2.3.2.1. Miopía**

La miopía es un defecto refractivo que se caracteriza principalmente por un aumento de la longitud axial del ojo. Dicho aumento hace que las imágenes se enfoquen delante de la retina, provocando así una visión borrosa de lejos. Se sabe que existe una relación inversa entre la longitud axial y la refracción, mediante la cual los ojos más largos son típicamente más miopes <sup>1</sup>.

La miopía es una condición que afecta a aproximadamente 1 de cada 6 personas en la población mundial y ha alcanzado proporciones epidémicas. En algunas sociedades de Asia Oriental, por ejemplo Singapur, el 70% o más de los jóvenes adolescentes son miopes <sup>83</sup>.

La prevalencia de la miopía en los niños sigue siendo baja, siendo del 2% en los niños que entran en la educación formal a la edad de 6 años. Entre los 7- 8 años aparece la miopía de inicio juvenil. Esta miopía progresa típicamente después de su inserción, con una tasa media de crecimiento de alrededor de -0,50 D por año. El ojo continúa creciendo a través de los años hasta la adolescencia (14-15 años para las mujeres y 15-16 años para los varones), lo que sugiere que la miopía sigue progresando en estos niños <sup>84</sup>.

La miopía se puede clasificar según la causa en dos tipos:

- Miopía axial, en la que el eje anteroposterior del ojo es demasiado largo. El poder refractivo del ojo, la curvatura de la córnea y del cristalino son normales. El ojo miope axial generalmente es más grande que el emétrope, incluso el segmento anterior. En la gran mayoría de los casos la miopía es de tipo axial.

- Miopía de curvatura, en la que existe un exceso de curvatura de la córnea, o de una o ambas superficies de la lente del cristalino. Los casos pronunciados de aumento verdadero de la curvatura corneal sólo aparecen en situaciones patológicas poco frecuentes, como la córnea cónica. Un aumento señalado de la curvatura del cristalino también es raro, aunque existen casos de lenticono anterior y posterior que pueden originar una miopía intensa.

### 2.3.2.2. Astigmatismo

Mientras que los ojos miopes e hipermétropes simples son sistemas ópticos estigmáticos que enfocan en un solo punto los rayos de luz procedentes del infinito, en un ojo astigmático las variaciones en la curvatura de la córnea o del cristalino según los diversos meridianos impiden enfocar los rayos de luz en un solo punto.

El astigmatismo es un problema clínico importante, ya que su prevalencia oscila entre el 20% y el 29,3% entre los adultos en Europa y 36,2% entre los sujetos mayores de 20 años en los EE.UU., con un impacto social y económico significativos, constituyen un factor de riesgo para la ambliopía y anisometropía. El astigmatismo está comúnmente asociado con otros defectos de refracción.

Podemos encontrarnos con 2 tipos de astigmatismos:

- Astigmatismo corneal:
  - Cuando el meridiano principal de mayor potencia está cercano a la vertical ( $60^\circ$  a  $120^\circ$ ) el astigmatismo corneal se conoce como astigmatismo directo o según la regla. El astigmatismo según la regla se acepta como fisiológico cuando su valor no supera las 0,25 D. Es probable que este tipo de astigmatismo se deba a la presión constante del párpado superior sobre la córnea, que provoca un aumento de la curvatura vertical y un aumento de la potencia en este meridiano. Aproximadamente el 90% de los niños con astigmatismo corneal presentan astigmatismo según la regla. En el adulto, este astigmatismo disminuye a menos del 80% de los casos y con el envejecimiento tiende a desaparecer o, incluso a convertirse en un astigmatismo contra la regla.

- Si el meridiano de máxima curvatura está próximo a la horizontal ( $0^\circ$  a  $30^\circ$ ) se le llama astigmatismo inverso o contra la regla.
- Cuando el meridiano de máxima potencia se halla en cualquier otra dirección y siempre que los meridianos principales estén en ángulo recto, el astigmatismo es *oblicuo*.
- El astigmatismo lenticular es el astigmatismo debido a la lente del cristalino. La causa puede ser una asimetría de curvatura de cualquiera de las superficies o de ambas, aunque es difícil hacer medidas precisas. El astigmatismo lenticular generalmente es contra la regla y no suele exceder 1,5 D. En el joven alcanza de 0,50 D a 0,75 D y más allá de los 50 años hay una tendencia a incrementarse, encontrándose, en este último grupo de población, una mayor proporción de sujetos con 1 D o 1,25 D <sup>85</sup>.

### 2.3.2.3. Hipermetropía

#### 2.3.2.3.1. Definición y concepto

La hipermetropía es el estado refractivo en el cual los rayos luminosos que llegan paralelos de un objeto distante, estando la acomodación relajada, no quedan enfocados en la retina, como sucede en el ojo emétrepe, sino que lo hacen detrás de ésta, ocasionando así una imagen borrosa <sup>85</sup>. El ojo hipermétrope es relativamente poco potente para su longitud axial, demasiado corto con relación a la distancia focal.

Puesto que el ojo hipermétrope solo puede enfocar sobre la retina la luz que llega con cierta convergencia, no podrá ver nítidamente un objeto real situado a cualquier distancia. Sin embargo, mediante un esfuerzo de acomodación, puede aumentar el deficiente poder convergente de su sistema óptico y ver claramente los objetos lejanos. El hipermétrope joven dispone de suficiente acomodación para hacer esto de forma inconsciente, y si su visión es normal puede que no sospeche la presencia del error refractivo.

Para poder resolver este estado refractivo se pueden colocar al paciente lentes positivas (convergentes o convexas) o activar el mecanismo de la acomodación para aumentar el poder de convergencia del ojo y así poder enfocar los objetos lejanos.

La acomodación es el mecanismo por el cual el ojo modifica su poder de refracción al variar la forma del cristalino según los mecanismos descritos por Helmholtz. El esfuerzo acomodativo tiene lugar al contraerse el músculo ciliar como respuesta a la estimulación parasimpática, lo que permite que las fibras de la zónula se relajen. Esto disminuye la tensión de su cápsula dirigida hacia el exterior, y el cristalino se vuelve más convexo. Por tanto, el movimiento de su borde ecuatorial lo aleja de la esclerótica durante la acomodación y vuelve a aproximarlos cuando se relaja su acción. La respuesta acomodativa obedece al aumento de convexidad del cristalino (sobre todo, en su cara anterior) <sup>85</sup>.

#### **2.3.2.3.2. Tipos de hipermetropía y características biométricas**

El 75% de los recién nacidos presentan una hipermetropía fisiológica en un grado de +2,50 D a +3,00 D y, a medida que progresa su desarrollo corporal, el eje anteroposterior se alarga de modo que una vez pasada la adolescencia, la mayoría de los ojos son emétopes.

Existen distintas causas por las que un ojo es hipermétrope:

- Lo más frecuente es la hipermetropía axial, que se debe a que el eje anteroposterior del ojo es más corto de lo normal (menor de 24 mm). Si sólo tuviéramos en cuenta la longitud axial del ojo para determinar el estado refractivo, aproximadamente, cada milímetro de acortamiento representaría 3 D de hipermetropía <sup>86</sup>.  
El rango de longitudes axiales en sujetos emétopes varía de 22,3 mm a 26 mm; la media es de 24,2 mm y la desviación estándar de 0,85 mm. En las hipermetropías baja y moderada la longitud axial está, con pocas excepciones, dentro del rango emétopo, aunque habitualmente más cerca del extremo inferior. En altas hipermetropías, la longitud axial suele ser menor de 22,3 mm, saliéndose del rango emétopo <sup>87</sup>.
- Menos frecuentes son los casos en los cuales el problema radica no en el eje axial sino en el poder dióptrico reducido que tiene el ojo o también llamado hipermetropía refractiva. Ello puede ser debido a la disminución de la curvatura de la córnea o del cristalino, de la distancia del cristalino a la retina o de la disminución del índice de refracción de los medios transparentes <sup>85</sup>. Dentro de la hipermetropía refractiva podemos encontrar dos subtipos:

- La hipermetropía de curvatura, en la que es la córnea la que causa el defecto refractivo. En los ojos emétopes la córnea tiene un poder dióptrico de 43 D. En estos pacientes, la curvatura de la córnea es plana. Puede ser debido a un traumatismo, enfermedad o de manera congénita. Cada milímetro de aumento de radio de la córnea equivale a 6 D de hipermetropía <sup>86</sup>.
- El otro subtipo es la hipermetropía de índice que se debe a alteraciones en el cristalino. En condiciones normales el cristalino posee 19,11 D (sin acomodación) y 33,06 D (con acomodación). En estos pacientes el índice de refracción del cristalino está disminuido. La causa puede ser fisiológica (en edad avanzada) y puede darse también en pacientes diabéticos. En este último caso, el cambio hipermetrópico coincide con la reducción de la glucemia tras una descompensación en la que ha habido una hiperglucemia que ha provocado, primero, una miopización <sup>85</sup>.

Podemos clasificar la hipermetropía en tres grados <sup>88</sup>:

- Leve o baja:  $<+2.00$  D
- Moderada: entre  $+2.00$  D y  $+5.00$  D
- Alta:  $> +5.00$  D

La distinción entre leve y moderada tiene un origen fundamentalmente clínico. Los niveles de hipermetropía entre  $+3.00$  y  $\leq +4.00$  D representan un aumento de más de 23 veces en el riesgo de esotropía en comparación con los niños que tienen una hipermetropía entre  $0$  a  $\leq +1.00$  D en una muestra basada en la población de 9.970 niños de 6 a 72 meses. La hipermetropía también es un importante factor de riesgo refractivo para la disminución de la agudeza visual bilateral, cuyas probabilidades aumentaron sustancialmente para los niveles de hipermetropía  $\geq +4.00$  D <sup>89</sup>.

#### **2.3.2.3.3. Clínica**

En las personas jóvenes, la capacidad acomodativa puede compensar defectos importantes bien total o parcialmente. Hablamos de hipermetropía latente para referirnos al defecto compensador por el tono del músculo ciliar y que solo se pone de manifiesto tras la relajación de este con ciclopléjicos. La hipermetropía manifiesta es la parte del defecto que podemos

observar sin necesidad de cicloplejia. Esta última se diferencia de la hipermetropía facultativa cuando el sujeto puede compensarla con la acomodación, e hipermetropía absoluta, la que no se puede compensar con la acomodación y precisa la prescripción de las gafas.

Aquellos pacientes que tengan una hipermetropía latente en donde su esfuerzo acomodativo sea capaz de compensar su pequeño defecto refractivo se verán acompañados por una astenopia acomodativa. Ésta se acompaña de fatiga visual, cefalea frontal, fluctuaciones de la visión, visión borrosa y espasmo de acomodación, entre otros síntomas. Lógicamente, dichos síntomas son más frecuentes cuanto mayor sea la demanda de acomodación.

Los pacientes con hipermetropía mayor de +3,00 D cursan con astenopia acomodativa, con una cefalea frontal que se va desarrollando a lo largo del día (raramente presente por la mañana), sobre todo relacionada con el esfuerzo visual de cerca, que suele cesar al dejar de leer. Cuando los defectos, siendo simétricos, son importantes, puede producirse una ambliopía binocular que suele mejorar, si el defecto se corrige en la infancia, tras unos meses de llevar la corrección adecuada.

La hipermetropía moderada ( $EE: \geq +2$  D) en niños de 6 a 12 años se ha asociado no sólo con estrabismo y ambliopía, sino también con astigmatismo, anisometropía, una convergencia anormal, estereopsis alterada, síntomas de fatiga ocular y con dificultades en el aprendizaje.<sup>90</sup>

Existe una gran controversia en corregir o no la hipermetropía alta en pacientes menores de 6 meses ya que está estudiado que es al final del primer año de vida cuando se completa la mayor parte del proceso de emetropización<sup>10</sup>. Estos datos sugieren que es preferible limitarnos a monitorizar la hipermetropía sin prescribir gafas en niños menores de 1 año, salvo si presenta estrabismo. Sin embargo, existen resultados contradictorios ya que mientras Ingram<sup>89</sup> afirma que tiene poco efecto sobre la incidencia del estrabismo, Atkinson<sup>91</sup> y colaboradores llegan a una conclusión opuesta.

#### **2.3.2.3.4. Complicaciones y morbilidad**

La hipermetropía es más frecuente en la población infantil y es precisamente en esta población en la que tiene mayor impacto la morbilidad asociada con la hipermetropía: concretamente el estrabismo y la ambliopía<sup>92</sup>. La incidencia de la ambliopía es del 4% en la población general siendo la principal causa de discapacidad visual en niños, pudiendo llegar a la pérdida irreversible

de la visión si no es tratada. La detección precoz en la población de riesgo de la hipermetropía, o de la susceptibilidad genética a padecerla, supondría un gran avance para evitar la morbilidad asociada a este error refractivo.

En una muestra poblacional de 9.970 niños de edades comprendidas entre los 6 y los 72 meses, se encontró una asociación casi lineal dependiente de la gravedad de la hipermetropía con la prevalencia de esotropía. Los niveles de hipermetropía entre + 2.00 D y + 3.00 D plantearon más de un aumento de 6 veces el riesgo de sufrir esotropía. Con hipermetropía entre +3.00 D y  $\leq$  +4.00 D la probabilidad de tener esotropía fue 23 veces mayor que los niños que tiene un grado de hipermetropía entre 0 a  $\leq$  + 1.00 D. En los niños que tienen  $\geq$  + 5,00 D la probabilidad de tener esotropía fue 122 veces mayor, con el 24% de los casos de esta muestra presentando esotropía<sup>93</sup>. La hipermetropía fue también un importante factor de riesgo refractivo para la disminución bilateral de la agudeza visual, cuyas probabilidades aumentaron sustancialmente para los niveles de hipermetropía  $\geq$  4,00 D. El análisis multivariado de regresión logística en la misma población demostró una OR de 4,5 para 2 líneas entre ambos ojos con una diferencia de agudeza visual de 1,00 D a <2,00 D de equivalente esférico<sup>94</sup>.

- Ambliopía y estrabismo: en diversos estudios se ha observado que por encima de +3,00 D aumenta la incidencia de ambliopía y estrabismo de forma significativa en relación con la población normal.<sup>10</sup>

Cuando el defecto refractivo es mayor en uno de los dos ojos, la acomodación solo será capaz de compensar el defecto de uno de los dos ojos (generalmente el menor). Esto ocasiona una ambliopía del ojo que no ha podido ser compensado en la totalidad de su defecto refractivo. Estos pacientes, en el caso de no ser corregidos adecuadamente, pueden manifestarse con un estrabismo acomodativo.

- Glaucoma agudo: la configuración anatómica del segmento anterior en los ojos hipermétropes los hace susceptibles a glaucoma por cierre angular en situaciones que provoquen una midriasis media como pobre iluminación, posición boca abajo, fármacos parasimpáticos (atropina, antidepresivos) o simpaticomiméticos alfa 1<sup>95</sup>.
- Síndrome del desprendimiento coroideo: es un raro trastorno que se asocia a ojos nanoftálmicos con longitudes axiales inferiores a 20 mm. Los pacientes presentan

desprendimiento coroideo y a veces desprendimiento de retina no regmatógeno asociado. El problema parece radicar en un defecto de drenaje de líquido intraescleral.

### **2.3.3. Factores que influyen en los defectos refractivos**

#### **2.3.3.1. Factores genéticos**

La refracción ocular es un fenotipo complejo que está influido tanto por factores ambientales como por la predisposición genética <sup>96</sup>. Numerosos modelos de miopía experimental y múltiples estudios epidemiológicos han confirmado que las exposiciones ambientales juegan un papel crucial en el crecimiento y desarrollo de la refracción ocular; y que los mecanismos biológicos precisos a través de los cuales el medio ambiente influye en la refracción ocular de los seres humanos son, todavía, un tema que está en debate. Es probable que las variables exógenas interactúen con factores hereditarios para modular el crecimiento del ojo durante el desarrollo ocular.

Se han realizado varios estudios de asociación de genoma completo (GWAS, *genome-wide association studies*) tanto en población europea como en asiática para estudiar la miopía y algunos fenotipos relacionados con ésta (error refractivo y longitud axial ocular entre otros). Cada una de estas publicaciones ha identificado una asociación única diferente con la miopía.

El estudio CREAM (*Consortium of Refractive Error and Myopia*) representa el mayor estudio sobre el error de refracción hasta la fecha. En junio de 2012 se llevó a cabo un meta-análisis internacional formado por 31 estudios independientes de dicho consorcio <sup>97</sup>. Se estudiaron SNPs en 15q14 y 15q25 en una población que representa a los 4 continentes con 55.177 voluntarios (42.845 caucásicos y 12.332 asiáticos). La principal fortaleza de este estudio es el gran tamaño muestral y la inclusión de diferentes etnias. Se identificaron dos genes de interés que se expresan en la retina en la región 15q14, el gen delta-2 de unión cruzada (*GJD2*) y actina alfa del músculo cardíaco 1 (*ACTC1*) <sup>98</sup>. El gen *GJD2* tiene un papel importante en la neurotransmisión en la retina, que es un mecanismo necesario para la regulación del crecimiento del ojo. La región 15q25 contiene el factor 1 de liberación de nucleótidos de guanina específica de la proteína RAS (*RASGRF1*) <sup>99</sup>, que se expresa en la retina y está implicado en la transmisión sináptica de la respuesta fotorreceptora. Los resultados mostraron que todos los SNPs analizados en el *locus* 15q14 se asocian con defectos de refracción en ambas poblaciones (caucásicos y asiáticos), y



que los portadores homocigotos del SNP rs634990 tenían aproximadamente el doble de riesgo de miopía. La asociación entre el *locus* 15q25 y el gen no es robusta, ya que ninguno de los SNPs se replica de manera significativa.

Actualmente se enumeran 16 *loci* con nombre MYP2-MYP17 para miopía no sindrómica o miopía aislada (Tabla 6), distribuidos en 13 cromosomas MYP1<sup>100</sup>. Al menos siete *loci* (MYP1, MYP3, MYP6, MYP11, MYP12, MYP14 y MYP17) han sido replicados con éxito <sup>101,102,103,104</sup>. Los análisis de la miopía y el error de refracción llevados por *Eye Study Beaver* han mostrado evidencia confirmatoria de la vinculación de la refracción ocular con el cromosoma 1q <sup>105</sup> específicamente en 22q12.

**Tabla 6.** *Locí* candidatos para la miopía no sindrómica y fenotipo asociado.

<b>Locus</b>	<b>Localización genética</b>	<b>Severidad de la miopía</b>
<b>MYP1-MYP5, MYP11-MYP13</b>	Xq28, 18p11.31, 12q21-q23, 7q36, 17q21-q22, 4q22-q27, 2q37.1, Xq23-q25	Alta miopía: -5,5D hasta -21D
<b>MYP6</b>	22q12	Miopía moderada: -12D hasta +7,25D
<b>MYP7</b>	11p13	
<b>MYP8</b>	3q26	
<b>MYP9</b>	8p23	
<b>MYP10</b>	4q12	

### 2.3.3.2. Factores ambientales

Diversos estudios han abordado el tema de los efectos genéticos y ambientales con respecto a los errores refractivos <sup>106,107,108</sup>. Los factores ambientales identificados hasta la fecha, parecen reflejar entre el 10% <sup>109</sup> y 12% <sup>110</sup> de la varianza fenotípica total de la miopía. Desafortunadamente, se sabe muy poco acerca de los factores de riesgo ambientales implicados en la hipermetropía <sup>90</sup>.

Actualmente, la etiología de la miopía no se entiende completamente, pero factores ambientales como la exposición excesiva al trabajo de cerca, un alto nivel educativo y la urbanización son factores que contribuyen en gran medida <sup>111,112</sup>. Existen diferentes estudios epidemiológicos <sup>113,114</sup> que avalan esta relación con respecto a la miopía.

Mutti y colaboradores llevaron a cabo una evaluación detallada de los efectos de confusión y de las interacciones entre los efectos hereditarios y ambientales frente a la miopía juvenil. Afirmaron que la herencia es el factor más importante asociado a la miopía y que el trabajo de cerca, el aumento de rendimiento escolar y las actividades deportivas al aire libre describen de manera muy débil la variación en el error refractivo en comparación con la heredabilidad. La prevalencia de la miopía en niños con ambos padres con miopía es 30 % a 40 %, de 20 % a 25 % en aquellos niños con uno de los padres con miopía y menos del 10 % en los niños sin padres con miopía. Cuanto mayor es el número de progenitores con miopía se elevan significativamente las probabilidades de ser miope; se reportó una OR de 5,09 por tener dos frente a no tener ninguno de los padres con miopía <sup>115</sup>.

Seang-Mei Saw y colaboradores llevaron a cabo un estudio transversal para determinar la relación que existía entre el trabajo de cerca y la miopía en 1.005 niños de entre 7 y 9 años de 2 escuelas de Singapur <sup>116</sup>. Los padres de los pacientes contabilizaron las horas, de manera detallada, de trabajo de cerca (libros leídos por semana, horas de lectura por día [adición de tres veces la lectura, dos veces el uso del ordenador, y dos veces videojuegos en horas por día]). Se evaluaron otros factores de riesgo como la miopía parental, la situación socioeconómica y la exposición a la luz <sup>117</sup>. La asociación entre la lectura y la miopía en niños de edad joven es mayor que la fuerza de la asociación que se establecería con sujetos de mayor edad <sup>118</sup>. El resultado obtenido fue que a mayor exposición de lectura mayor era la propensión a ser miopes. Sin embargo, debido a que muchos de los factores de riesgo considerados pueden estar interrelacionados y que la lectura y la miopía se midieron en un punto de tiempo concreto, los autores deciden no llegar a una conclusión definitiva, ya que el estudio está realizado de manera transversal.

Los miopes tienden a tener puntuaciones más altas en las pruebas de inteligencia y la capacidad cognitiva. En este sentido, se llevó a cabo el estudio de Rosner <sup>119</sup> de la relación entre los defectos de refracción, las puntuaciones de inteligencia y los años de la escolaridad en 157.748 varones de 17 a 19 años, encontrándose una fuerte asociación de la miopía con la inteligencia y los años de escolaridad. La prevalencia de la miopía fue significativamente mayor en los grupos más inteligentes y educados, ejerciendo un efecto similar en el desarrollo de la miopía <sup>120</sup>. Por el contrario, los pacientes hipermetropes mostraron peor habilidad de lectura y otras anomalías perceptuales <sup>121,122</sup>.

Recientemente se ha demostrado que realizar actividades al aire libre como la práctica de deportes previene de la miopía <sup>110,123-125</sup>. Todos estos estudios abren la posibilidad de investigar el papel del medio ambiente en aquellos individuos que presentan susceptibilidad genética.

#### 2.3.4. Herencia de los errores refractivos

En biología y específicamente en genética, se denomina genotipo a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN (ácido desoxirribonucleico). Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes. El fenotipo es cualquier característica o rasgo observable de un organismo, como su morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento. La diferencia entre el genotipo y fenotipo es que el genotipo se puede distinguir observando el ADN, y el fenotipo puede conocerse por medio de la observación de la apariencia externa del organismo. De otro modo, el genotipo puede definirse como el conjunto de genes de un organismo y el fenotipo como el conjunto de sus rasgos. El genotipo, junto con factores ambientales que actúan sobre el ADN, determina las características del organismo, es decir, el fenotipo.

**Fenotipo = genotipo + factores ambientales**

La heredabilidad se define formalmente como la parte de variación global de un rasgo determinado en una población que es atribuible a la variación genética entre los individuos. La varianza genética se refiere a lo que nos parecemos a nuestros padres <sup>126</sup>.

En el sentido más estricto, la heredabilidad es espacial y temporalmente dependiente, específica para una población dada en un momento dado. Los cálculos pueden variar si los antecedentes genéticos o la composición y el efecto de las variables ambientales difieren sustancialmente entre las poblaciones.

A menudo asumimos que todos los efectos genéticos de la heredabilidad son aditivos y no siempre es así; los efectos genéticos son aditivos cuando los alelos de un *locus* en un cromosoma se suman para constituir un fenotipo, pero a veces, los efectos de los alelos en un *locus* son dominantes (es decir, no aditivos). Los efectos no aditivos hacen que nos diferenciamos de nuestros padres.

Las estimaciones de heredabilidad sobre los errores refractivos y los componentes oculares se derivan de los estudios que utilizan familias (padres e hijos) o mellizos como la unidad de estudio. El principio subyacente es por la similitud de la expresión de un rasgo entre un grupo de individuos con una relación genética equivalente y conocida <sup>126</sup>. En los estudios de gemelos también es importante el que se comparta el mismo ambiente entre parejas tanto monocigóticas como dicigóticas. De esta manera se pueden eliminar los sesgos causados por las diferencias que existen en la edad y puede, bajo ciertas suposiciones sobre el medio ambiente, valorar la influencia genética y ambiental sobre la variación biológica <sup>127</sup>. Cuando existen diferencias en la edad de los pacientes (padres e hijos) y en el medioambiente, los investigadores no son capaces de identificar claramente el papel de los genes y la importancia que ha tenido el medio ambiente en el cambio de fenotipo.

Los estudios que han investigado los errores refractivos han demostrado claramente la implicación genética en su etiología <sup>3</sup>. Los estudios de heredabilidad han cuantificado este componente genético de los errores refractivos, incluyendo tanto miopía como hipermetropía, indicando que entre el 50 y el 80 % de la concordancia fenotípica es explicable por efectos genéticos tanto aditivos como dominantes. En comparación con la miopía, los factores hereditarios pueden jugar incluso un papel más importante que los factores ambientales en el desarrollo de la hipermetropía <sup>128</sup>. De hecho, el único factor de riesgo evitable que parece estar relacionado con el desarrollo de la hipermetropía en los niños es el tabaquismo materno durante el embarazo <sup>90,129</sup>.

El carácter hereditario de la hipermetropía ha sido demostrado por numerosas investigaciones en familias y en gemelos. La concordancia de la hipermetropía en gemelos monocigóticos tiende a persistir invariable al largo de la vida y los factores ambientales no parecen ejercer gran influencia. Además, se han encontrado diferentes patrones hereditarios dependiendo del grado de hipermetropía. Por un lado, la hipermetropía baja y moderada pueden ser consideradas una variación dentro de los límites normales de la distribución binomial, encontrando algunos estudios un patrón autosómico dominante. Por otro lado, la alta hipermetropía es muy poco frecuente, asociándose las formas extremas a anomalías del ojo como microcórnea o microftalmía. En estos casos la herencia suele ser autosómica recesiva y con escasa frecuencia dominante <sup>130</sup>.

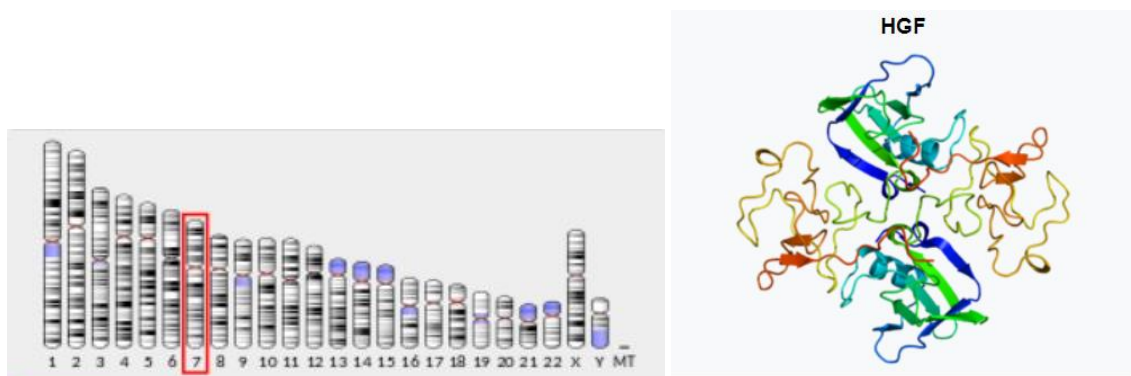
Lyhne y colaboradores llevaron a cabo un estudio cuyo propósito fue estimar la importancia de los genes y el medio ambiente con respecto a la refracción ocular y sus determinantes en una cohorte de base poblacional de 20 a 45 años de edad en pares de gemelos (53 monocigóticos y 61 dicigóticos) <sup>131</sup>. El modelo estimó la proporción de la variación fenotípica debida a efectos genéticos aditivos y dominantes así como a los efectos ambientales comunes y únicos, respectivamente. Se evaluó el grado de educación sumando los años de asistencia a la escuela (escuela básica y secundaria, entre 7 y 12,5 años) y la educación superior (mayor de 12,5 años). La heredabilidad se estimó por medio de un modelo etiológico basado en ecuaciones estructurales. Se analizó la evidencia de la interacción entre genes y medio ambiente por medio de parejas de gemelos monocigóticos.

Los resultados del estudio indicaron una alta heredabilidad para la refracción ocular y que el entorno común presumiblemente no tenía efecto significativo sobre la variación fenotípica de acuerdo con el modelo etiológico. Estos hallazgos indican que los niños pueden heredar la miopía como un rasgo de sus padres. Los individuos genéticamente susceptibles pueden desarrollar miopía si se exponen a ciertos factores ambientales como es el trabajo cercano, aunque no se convierten en miopes sólo por adoptar dichos hábitos. Esto podría tener implicaciones clínicas importantes en un ambiente de alto riesgo, donde un gran número de personas en riesgo pueden estar expuestas, como es el caso de ciudades de Asia. La heredabilidad se estima entre 0,89 y 0,94 (IC del 95%: 0,82-0,96) para la refracción, la longitud axial y el radio de curvatura de la córnea. La variación fenotípica se debió principalmente a los efectos aditivos genéticos. Para llevar a cabo la estimación cuantitativa de dicha interacción se requería una gran muestra de gemelos y, sobre todo, de información fiable sobre los factores ambientales relevantes (la exposición al trabajo de cerca durante la primera infancia y el estudio de los hábitos de cada uno de los gemelos) de su vida pasada.

## **2.4 Gen *HGF***

### **2.4.1. Función del gen**

El factor de crecimiento de los hepatocitos (*HGF*), también conocido como factor disperso “scatter factor”, es un gen que se localiza en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21.11) y posee 18 exones que abarcan una longitud de 67,91 Kb (Figura 7).



**Figura 7.** Localización y estructura del gen *HGF*.

*HGF* es principalmente secretado por células mesenquimales y actúa como una citoquina multifuncional en células de origen principalmente epitelial. Su vía de señalización se activa por una cascada de señalización de tirosina quinasa después de su unión al receptor proto-oncogénico de c-MET (*receptor tirosin quinasa*). Entre sus múltiples funciones destacan su capacidad para estimular la mitogénesis, la motilidad celular y la invasión de la matriz que le da un papel central en la angiogénesis, la tumorigénesis y la regeneración de tejidos <sup>132</sup>.

*HGF* participa como factor organotrófico en la regeneración y protección de estructuras de diversos órganos (hígado, pulmón, riñón, estómago, páncreas, corazón y cerebro) actuando de manera endocrina, autocrina y/o paracrina. A su vez, también participa en el desarrollo embrionario del hígado, riñón, pulmón, glándula mamaria, músculo y tejido neuronal.

En el hígado, el gen *HGF* es principalmente mitógeno en hepatocitos tanto *in vivo* como *in vitro* y un inductor de la regeneración hepática. Esta actividad antiapoptótica parece contribuir de forma muy importante a los efectos hepatotróficos, en particular, su capacidad para atenuar la fibrosis y cirrosis, y otras disfunciones hepáticas <sup>133</sup>.

La activación inapropiada de la ruta *HGF/Met* parece estar implicada en la formación y progresión tumoral, contribuyendo al crecimiento, angiogénesis, invasión y metástasis de una gran variedad de tumores sólidos como hígado y riñón. Las mutaciones responsables de estas neoplasias son espontáneas y conducen a cambios en las proteínas que dan lugar a células aberrantes <sup>134</sup>. De particular relevancia es el papel de *HGF* en el control del crecimiento y la división celular del tumor, fenómeno que comprende varios procesos biológicos, como son la capacidad de la célula neoplásica para migrar e invadir tejidos adyacentes, sobrevivir en los

nuevos compartimentos y proliferar, para finalmente establecerse en sitios distantes del tumor original. Por todo esto, la señalización de Met es una diana potencial de la terapia antitumoral<sup>135</sup>. Diferentes trabajos han indicado también que el gen *HGF* tiene importantes efectos durante el proceso de cierre de las heridas<sup>136</sup>.

#### **2.4.2. *HGF* y patologías oculares**

*HGF* se expresa en muchos tejidos oculares, incluyendo el epitelio de la córnea y del endotelio, el iris, el epitelio pigmentario de la retina, el epitelio del cristalino y la malla trabecular, estimulando su crecimiento y migración<sup>137</sup>. Su expresión está regulada positivamente en los queratocitos después de la herida epitelial de la córnea, contribuyendo al proceso de curación de las heridas epiteliales<sup>137</sup>. Por otro lado, *HGF* modula en la glándula lagrimal la proliferación de células epiteliales de la córnea, la motilidad y la diferenciación de éstas.

La señalización celular que lleva a cabo el gen *HGF* a través de su receptor c-Met activa la remodelación escleral y el alargamiento axial que provocan cambios en la refracción. Se afirma, por tanto, que posee un papel importante en la interrupción del proceso de emetropización<sup>138</sup>.

En el año 2006, Han y colaboradores investigaron la asociación de la alta miopía ( $EE \leq -10.0D$ ) con distintos polimorfismos (*HGF*5-5b, *HGF*e9 y *HGF*e10b) en el gen *HGF* en una población asiática (n=150) estableciendo que el gen *HGF* es un *locus* potencialmente asociado con la alta miopía en la población China<sup>139</sup>.

Tras confirmarse la asociación del gen *HGF* con la miopía, en 2009, Yanovitch y colaboradores examinaron la participación asociativa de este gen y su receptor c-MET con la miopía leve ( $\leq -0,5 D$ ), moderada ( $-0,5 D$  a  $-5,00 D$ ), alta ( $\leq -5,00 D$ ) y extrema ( $\leq -10,00 D$ ) en una gran cohorte Europea (n=649)<sup>140</sup>. Este estudio reveló una asociación entre el polimorfismo del gen *HGF* rs3735520 y 2 haplotipos con la miopía leve y moderada comparándolo con los pacientes emétopes. También se detectó una asociación entre rs2286194 con la miopía extrema. Las asociaciones estadísticas del polimorfismo del receptor c-MET con la miopía (leve/moderada y alta) encontradas en el estudio de Han con pacientes asiáticos no pudieron ser replicadas en este estudio.

A finales del 2009 se genera una gran controversia al publicarse los resultados obtenidos por Schache y colaboradores en un estudio de casos y controles con 818 adultos de raza caucásica en el que genotiparon 16 SNPs del gen MET buscando relación con los defectos refractivos (miopía e hipermetropía) y las medidas biométricas oculares (longitud axial, curvatura de la córnea y profundidad de la cámara anterior)<sup>141</sup>. Los resultados de este estudio no pudieron concluir que MET tuviera un papel genético directo en la miopía (leve/moderada/alta), en la hipermetropía ni en las medidas biométricas. Schache propone la posibilidad de que moléculas adicionales en las vías de señalización de c-MET puedan estar implicadas. Sin embargo, dado que c-MET es el único receptor conocido del gen *HGF* y la relación entre *HGF* y estos genes es muy compleja, son necesarios más estudios para desentrañar la naturaleza de estas rutas tan complejas.

Khor y colaboradores llevaron a cabo un estudio de cohortes con 579 niños de Singapur entre 7 y 12 años para evaluar si la variación genética en c-MET está asociada con el error refractivo o cambios de refracción en el tiempo (3 años)<sup>142</sup>. Se observó que la variación genética común en MET (SNP rs2073560) se asocia con la miopía moderada y con un mayor índice de cambio de la miopía en el tiempo, independientemente de la potencia de refracción inicial. No se encontró asociación genética con la longitud axial ni con la hipermetropía. No fue inesperado encontrar este resultado ya que la expresión de c-MET ha demostrado ser predominantemente en la lente y la córnea y no en la esclera. También observaron que ser portador del alelo variante no era suficiente para causar la miopía, ya que algunos hipermétropes y emétropes presentan también la variante de este alelo.

Veerappan y colaboradores descubrieron, en el año 2010, la asociación que existe entre el gen *HGF* y dos defectos refractivos (baja-moderada miopía e hipermetropía)<sup>4</sup>. Los pacientes del estudio fueron incluidos desde 3 cohortes distintas de población adulta australiana. Participaron 551 individuos de raza caucásica (193 hombres y 358 mujeres), con una media de edad de 55,4 años. Se incluyeron 117 personas con alta miopía ( $\leq 6$  D), 140 personas con baja-moderada miopía (-2.00 D a -5.99 D), 148 pacientes emétropes (-0.5 D a +0.75 D) y 146 individuos con hipermetropía ( $>+2.00$  D). Este es el primer estudio en el que se identifica positivamente un gen para la hipermetropía. Son los polimorfismos rs12536657 y rs5745718 del gen *HGF* los que se han asociado a la hipermetropía con una OR de 5,53 y 2,24 respectivamente. También se determinó que los SNPs rs1743, rs4732402, rs12536657, rs10272030 y rs9642131 mostraron



una asociación significativa en pacientes con baja-moderada miopía. En este mismo trabajo se verificó la asociación de la alta miopía con los distintos genes analizados ya en otros trabajos. Además, se propone la probabilidad de que diferentes SNPs puedan estar asociados con la refracción en individuos de diferentes grupos étnicos.

Se conoce que tanto el glaucoma de ángulo cerrado como la hipermetropía presentan las mismas características biométricas con respecto a la longitud axial, ya que en los dos casos es corta. El gen *HGF* puede ser también un factor de riesgo para dicho tipo de glaucoma. Un estudio reciente reveló que cuatro SNPs del gen *HGF* (rs5745718, rs12536657, rs12540393 y rs17427817) están asociados con la susceptibilidad de padecer glaucoma primario de ángulo cerrado en una población de Nepal <sup>143</sup>. Jiang y colaboradores llevaron a cabo un estudio para determinar el papel del gen *HGF* sobre la influencia de padecer glaucoma primario de ángulo cerrado en población china <sup>144</sup>. Encontraron que los SNPs rs5745718 y rs17427817 se asocian con un menor riesgo de glaucoma de ángulo estrecho, demostrando así un papel protector en esta población a diferencia de los habitantes de Nepal.

## **HIPÓTESIS**

### 3. HIPÓTESIS

- Nuestro proyecto se basa en la hipótesis que existe una asociación significativa del gen *HGF* y en concreto del polimorfismo rs12536657 con la hipermetropía, en una muestra de la población pediátrica española frente a una muestra de adolescentes y adultos emétopes.
- Por otro lado, también planteamos que hay una relación entre los componentes refractivos oculares y el polimorfismo rs12536657 del gen *HGF* en la misma población de estudio. Los componentes refractivos relacionados con dicho polimorfismo serían: equivalente esférico, longitud axial, K plana, K curva, K media, profundidad de cámara anterior, astigmatismo corneal, blanco-blanco, grosor corneal central, grosor corneal apical obtenidos mediante análisis biométrico y topográfico.

## **OBJETIVOS**

#### 4. OBJETIVOS

Los principales objetivos del proyecto son los siguientes:

- Seleccionar una muestra de individuos en edad pediátrica (5 a 17 años) con hipermetropía infantil ( $\geq +3.50$  D).
- Seleccionar una muestra de individuos emétopes ( $> -0,50$  D  $< +1,25$  D) tanto adolescentes (de 13 a 17 años) como adultos jóvenes (de 18 a 28 años).
- Analizar la posible asociación del SNP rs12536657 del gen *HGF* con la hipermetropía ( $\geq +3.50$  D) en una población pediátrica española.
- Analizar y comparar las características biométricas oculares con el biómetro (equivalente esférico, astigmatismo corneal, longitud axial, K plana, K curva, K media, profundidad de cámara anterior) y con el topógrafo (K plana, K curva, K media, blanco-blanco, profundidad de cámara anterior, grosor corneal central, espesor corneal apical) tanto en casos como en controles.
- Estudiar la asociación de las características biométricas con el SNP rs12536657 del gen *HGF*.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1. Diseño del estudio

Se diseñó un estudio transversal observacional prospectivo y multicéntrico de casos y controles en población caucásica. Los pacientes fueron reclutados entre 2012 y 2015 en cuatro hospitales españoles: Clínica Universidad de Navarra (Pamplona), Hospital Universitario La Paz (Madrid), Instituto Clínico Quirúrgico de Oftalmología (Bilbao) y Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza).

### 5.2. Selección de la muestra

El estudio incluyó 403 sujetos españoles caucásicos no emparentados que incluían 188 niños y adolescentes hipermétropes ( $\geq +3.50D$ ) de 5 a 17 años, y 215 individuos emétropes ( $> -0,50 D$   $< +1,25 D$ ) de 13 a 28 años de edad. Tanto los casos como los controles fueron reclutados según acudían a las consultas para sus revisiones rutinarias en los distintos hospitales.

El estudio se plantea en población pediátrica, ya que tienen mayor incidencia y morbilidad causada por la hipermetropía <sup>145-147</sup>. Debido a la necesidad de comparar el grupo de hipermétropes con un grupo emétrepe estable (lo más inmutable posible desde el punto de vista de refracción ocular) y también por tener que establecer un punto de corte en los ojos en crecimiento de niños de 5 a 17 años en los que la hipermetropía es el estado fisiológico, diseñamos un grupo control con diferentes grupos de edad. Dividimos, por tanto, el grupo emétrepe en 2 subgrupos: 52 adolescentes emétrópes de 13 a 17 años y 163 adultos emétrópes jóvenes de 18 a 28 años. Varias razones nos llevan a diseñar nuestros grupos de control con diferentes edades y no emparejados por edad con los casos en el total de la muestra:

1) La dificultad de encontrar un grupo de control genuino de niños pequeños emétrópes (de 5 a 12 años), ya que la emetropía es un proceso que evoluciona a lo largo de los años y no se estabiliza hasta la adolescencia (el alargamiento ocular se desacelera en la segunda década de la vida y se estanca entre los 13 y los 18 años <sup>148</sup>). Motivo por el cual decidimos no incluir niños menores de 13 años en el grupo de emétrópes.

2) A diferencia de la baja hipermetropía fisiológica que tiende a desaparecer con la edad, la hipermetropía moderada o alta presente en la edad pediátrica tiende a tener un cambio mucho

menor y, por lo tanto, su cantidad de dioptrías con frecuencia permanece similar hasta la edad adulta. Por tanto aunque el grupo de hipermétropes incluye a niños de 5 a 12 años que van a ser comparados con individuos de mayor edad, esta comparación sería sobre una refracción que permanecería similar en la edad adulta.

3) Existen pocos estudios de genética que incluyen adultos jóvenes emétopes reales verificados con refracción cicloplégica.

4) Sólo los adolescentes y adultos jóvenes presentan un conjunto fidedigno de sujetos no miópicos que aún conservan información genotípica infantil. Este hecho se ve respaldado por la imposibilidad de una causa inversa en un estudio genético, donde el genotipo no puede verse afectado por el fenotipo <sup>149</sup>.

5) Los análisis estadísticos empleados en nuestro estudio están diseñados para tener en cuenta cualquier variación confusa relacionada con la edad y el sexo.

### **5.2.1. Criterios de inclusión**

#### Grupo de estudio (casos):

- Edad entre 5 y 17 años.
- Raza caucásica.
- Equivalente esférico tras cicloplegia  $\geq +3,5$  D en el ojo menos hipermetrope.
- Astigmatismo  $\leq -3.00$  D en ambos ojos.
- Pueden presentar morbilidad asociada a la hipermetropía (ambliopía, estrabismo).

#### Grupo control:

- Edad entre 13 y 17 años (grupo de adolescentes emétopes) o entre 18 y 28 años (grupo de adultos jóvenes emétopes).
- Raza caucásica.
- Agudeza visual monocular no corregida de al menos 1.0 (en la escala de agudeza visual de Snellen).
- Equivalente esférico (SE) tras cicloplegia de  $> -0,50$  D  $< +1.25$  en ambos ojos.



### 5.2.2. Criterios de exclusión

En ambos grupos se excluyeron:

- Pacientes no caucásicos españoles.
- Pacientes con enfermedades sistémicas.
- Antecedentes quirúrgicos oculares.
- Antecedentes familiares de miopía magna, nanofthalmos o queratocono.
- Pacientes con enfermedad ocular no asociada con los defectos refractivos.
- Astigmatismo superior a -3.00 D.
- Baja calidad en las pruebas realizadas (biometría y topografía).

### 5.3. Protocolo clínico

Una vez firmado el consentimiento (Anexo 1) para participar en el estudio por el sujeto (en el grupo de controles adultos), o por uno de los progenitores o representante legal (en el grupo de casos y controles menores de edad), se llevó a cabo el siguiente protocolo.

- 1) Anamnesis dirigida a recoger los datos relevantes en cuanto a la historia oftalmológica del paciente y antecedentes familiares de defectos refractivos o enfermedades oculares importantes.
- 2) Exploración oftalmológica inicial. El oftalmólogo de cada hospital valoró la agudeza visual mejor corregida (optotipos a 6 metros en los distintos centros). Se exploró al paciente en la lámpara de hendidura para la valoración del segmento anterior de ambos ojos descartando cualquier tipo de alteración en la córnea, conjuntiva y cristalino. También se valoró la motilidad ocular extrínseca y finalmente se exploró el fondo de ojo, con midriasis previa, para la correcta visualización del nervio óptico, la mácula y el resto de polo posterior de ambos ojos.
- 3) Se determinó la longitud axial de los dos ojos del paciente mediante interferometría óptica de no contacto (IOLMaster 500®, software versión 7.1; Carl Zeiss Meditec, Jena, Alemania). Se realizaron 5 medidas por cada ojo del paciente, realizadas por un técnico entrenado (siempre la misma persona en cada uno de los distintos hospitales) en la realización de la prueba. Se repitió la prueba hasta conseguir las 5 medidas fiables. También se realizó la medida de la curvatura de la córnea tanto la

queratometría plana como la curva, la profundidad de la cámara anterior y la distancia blanco-blanco de ambos ojos en todos los pacientes, tanto en casos como en controles.

- 4) El análisis topográfico se realizó con Sirius® (software de Phoenix versión 1.0.5.72; CSO, Florence, Italia). Se determinó la curvatura de la córnea (valores SimK, meridiano de la curvatura corneal plana y curva, queratometría media), el grosor corneal medio, blanco-blanco y la profundidad de la cámara anterior de ambos ojos. También se recogieron los datos de la medida del ángulo iridocorneal. Esta prueba la llevó a cabo un técnico con experiencia (siempre la misma persona en los distintos hospitales) y se repitió la prueba hasta obtener un examen fiable.
- 5) Tras dichas pruebas se pasó a la dilatación pupilar de ambos ojos con colirio de ciclopentolato 1% instilando 3 gotas en cada ojo administradas con 5 minutos de diferencia en el fondo de saco de ambos ojos. A los 30 minutos de la última gota se realizó una medición de la refracción ocular con el autorrefractómetro disponible en cada hospital. La media de las 5 refracciones es el valor que ha sido tenido en cuenta para el análisis posterior. Se comprobó la agudeza visual tras el efecto del ciclopléxico en la consulta por el doctor de cada hospital y valoración del fondo de ojo por el mismo. El equivalente esférico se calculó como error esférico más la mitad del error cilíndrico.

#### **5.4. Método de laboratorio**

La toma de muestras de ADN se llevó a cabo de la misma manera por todos los técnicos de los distintos hospitales siguiendo las indicaciones de un video explicativo: (<https://www.youtube.com/watch?v=XRiwX9cYCXo>). Antes de tomar la muestra se confirmó si el paciente había tomado algún alimento o fumado desde 1 hora antes, y en caso afirmativo se esperaba dicho tiempo antes de proceder a la toma de la muestra. El técnico extraía el hisopo o torunda estéril (Deltalab®, Barcelona) del sobre sin tocar ninguna superficie y se recogía la muestra pasándolo con fuerza, por el lado interno de la mejilla de los pacientes durante 30 segundos. A continuación repetía la misma acción con el segundo hisopo en la otra mejilla (2 muestras por paciente). Tras el raspado bucal se dejaba el hisopo en una zona plana y lisa para que se secase la muestra sin que la zona del algodón tocara ninguna superficie y así evitar la contaminación de la muestra. Tras 15 minutos de secado, se introducía la muestra en el mismo

sobre y se pasaba a marcar la muestra con una letra (según el hospital de procedencia) y un número. Cuando cada hospital tenía un mínimo de 15-20 hisopos los remitían al Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Clínica Universidad de Navarra (Pamplona, España) donde se realizaba el genotipado en la misma semana que se recibían las muestras. No hubo ningún paciente que no colaborara en la extracción de la muestra. Las muestras genéticas analizadas y las sobrantes se mantuvieron almacenadas y codificadas en el Biobanco de la Universidad de Navarra durante todo el estudio por si había necesidad de repetir alguno de los análisis. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a la Declaración de Helsinki. Cada uno de los comités de ética locales de los centros participantes aprobó el estudio.

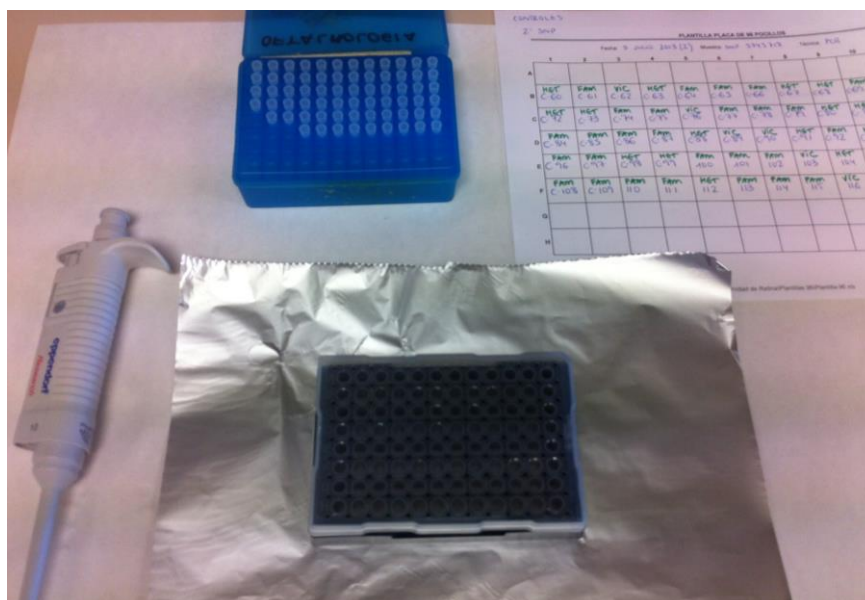
Una vez se recibían las muestras en el laboratorio se dejaron los hisopos incubando durante toda una noche con solución TNES (Tris 50 mM, NaCl 0,4 M, EDTA 100 mM y SDS al 0,5%) precalentada a 55 °C y proteinasa K. Posteriormente, se añadió NaCl 6M, se centrifugó durante 30 minutos (Figura 8A) y se añadió al sobrenadante etanol al 96% frío (-20 °C). Se volvió a centrifugar, se eliminó el etanol y se lavó con etanol 70% frío (-20 °C); se volvió a centrifugar y se dejó secar el pellet durante unas 2 horas para luego resuspenderlo y cuantificar la concentración de ADN mediante espectrofotometría (Nanodrop Technologies, Montchanin, Alemania) (Figura 8B).



**Figura 8.**

A) Centrifuga. Eppendorf, Hamburgo, Alemania. B) Espectrofotómetro. ND-1000. Nanodrop Technologies, Montchanin, AlemaniaEl genotipado se realizó mediante PCR a tiempo real con

sondas de genotipado específicas TaqMan® Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA). Se utilizaron los ensayos C\_2570874\_10 y C\_29171661\_10 para el marcador rs12536657 del gen *HGF* siguiendo las instrucciones del fabricante. La reacción de PCR se realizó en un volumen de 4,625  $\mu\text{L}$  (0,125  $\mu\text{L}$  del ensayo TaqMan; 2,5  $\mu\text{L}$  de Máster Mix; 2  $\mu\text{L}$  de muestra de ADN a una concentración de 15 ng/ $\mu\text{L}$ ) en el termociclador Abi-Prism 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Se emplearon placas ópticas de 96 pocillos con código de barras (MicroAmp Optical Applied Biosystems). Como controles de genotipado se utilizaron 2 muestrars duplicadas ciegas (Figura 9).



**Figura 9.** Placas para la realización de la PCR a tiempo real.

## 5.5. Método estadístico

### 5.5.1. Variables estudiadas

<b>Edad</b>	<b>Años</b>
<b>Género</b>	Femenino/Masculino
<b>Equivalente Esférico</b>	Dioptías
<b>Esfera</b>	Dioptías
<b>Cilindro</b>	Dioptías
<b>K plana TOP</b>	Dioptías

<b>K curva TOP</b>	Dioptías
<b>K media TOP</b>	Dioptías
<b>Profundidad de cámara anterior TOP</b>	mm
<b>Blanco-Blanco TOP</b>	mm
<b>Grosor corneal central TOP</b>	µm
<b>Espesor corneal apical TOP</b>	µm
<b>Longitud Axial BIO</b>	mm
<b>K plana BIO</b>	Dioptías
<b>K curva BIO</b>	Dioptías
<b>K media BIO</b>	Dioptías
<b>Profundidad de cámara anterior BIO</b>	mm
<b>Blanco-Blanco BIO</b>	mm

### 5.5.2. Cálculo del tamaño muestral

Los cálculos de tamaño muestral se realizaron utilizando el software Quanto v 1.2.4, considerando una frecuencia del alelo menor de 0,14 (promediado por las frecuencias publicadas previamente por Veerappan <sup>4</sup>). Los cálculos de potencia indicaron un tamaño muestral de 178 individuos por grupo para detectar un OR (Odds Ratio) de 1,8 con una potencia del 80% y un error alfa de 0,05 en un modelo genético aditivo, suponiendo un tamaño de muestra igual de casos y controles.

### 5.5.3. Tests estadísticos

La descripción de los parámetros cuantitativos se realizó mediante la media y la desviación estandar (SD). Los variables categóricas se describieron en frecuencias.

Las frecuencias genotípicas y alélicas para el SNP rs12536657 se compararon entre diferentes grupos utilizando la prueba de Chi cuadrado en un modelo aditivo. El modelo aditivo fue utilizado tras análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas con el programa SNPStats. Este programa, desarrollado por la Universidad de Barcelona, permite analizar los diferentes modelos de herencia: co-dominante, dominante, recesivo, sobre-dominante y aditivo y elegir el más adecuado a los datos basándose en el índice o criterio de información de Akaike (AIC), que

se considera una medida de la calidad relativa de un modelo estadístico para un conjunto de datos <sup>150</sup>. Los grupos de comparación fueron: niños con hipermetropía (n = 188) frente todos los pacientes emétopes (n = 215); niños hipermétropes (5 a 17 años) frente niños emétopes (13 a 17 años); y niños hipermétropes (5 a 17 años) frente adultos emétopes (18 a 28 años).

Se calcularon pruebas de razón de verosimilitud para evaluar la concordancia entre las frecuencias de genotipo observadas y las esperadas para el cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE).

Utilizamos la regresión logística para el análisis de la hipermetropía como un rasgo cualitativo para SNP rs12536657 y los mismos grupos de comparación. Se utilizó un modelo genético aditivo en todas las pruebas de regresión. Por lo tanto, un alelo se asignó como el alelo de referencia y el otro alelo de riesgo; el tamaño del efecto por copia de alelo menor se calculó para el SNP rs12536657. La edad y el género se incluyeron como covariables adicionales cuando fue apropiado, y se usó la regresión logística condicional para determinar si existía asociación entre la edad y los genotipos.

El método de la ecuación de estimación generalizada univariada (GEE) se utilizó para analizar la asociación del SNP rs12536657 del gen *HGF* con cada uno de los parámetros cuantitativos de medidas refractivas: equivalente esférico y astigmatismo; mediciones biométricas: longitud axial, curvatura corneal y profundidad de la cámara anterior; medidas topográficas: curvatura corneal, grosor corneal central, grosor corneal apical, diámetro corneal horizontal (medición corneal blanco a blanco) y profundidad de la cámara anterior bajo un modelo genético aditivo. El método GEE ajustado por edad y género se utilizó para evaluar la asociación de cada parámetro biométrico y el SNP rs12536657 del gen *HGF* en el conjunto completo de participantes (sin agrupar), y también por separado para los grupos de casos y controles.

Los datos de ambos ojos para cada participante se utilizaron en este análisis, considerándolos no como valores independientes, sino teniendo en cuenta la correlación entre los dos ojos del mismo paciente (analizados como un par) a través del método GEE. GEE es una extensión de la regresión lineal, que ofrece la ventaja de mantener los datos de ambos ojos para cada participante, teniendo en cuenta la correlación entre los dos ojos <sup>151</sup>.

Todas las pruebas de regresión se implementaron utilizando SPSS (versión 20.0; SPSS Inc, Chicago, IL) y valores de  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.



## **RESULTADOS**



## 6. RESULTADOS

### 6.1. Resultados descriptivos

Se incluyeron en el estudio un total de 403 individuos caucásicos (194 varones y 209 mujeres), incluyendo 188 niños hipermétropes (5 a 17 años; EE:  $\geq +3,50$  D), 52 niños emétropes (13 a 17 años; EE:  $> -0,50$  D  $< +1,25$  D) y 163 adultos jóvenes emétropes (18 a 28 años; EE:  $> -0,50$  D  $< +1,25$  D). Se identificaron diferencias significativas en las proporciones de hombres y mujeres entre los grupos caso y control y, por tanto, todos los análisis subsiguientes se ajustaron según el género. La media EE fue de  $+5,79 \pm 1,47$ D ( $+3,50$  a  $+11,75$ ) para el grupo de hipermetropía y  $+0,06 \pm 0,45$ D ( $-0,50$  a  $+1,13$ ) para los grupos emétropes. Se pudo lograr una topografía corneal fiable en el 89,33% de los casos, y la biometría de IOL Máster en el 95,21% de los casos. Las mediciones refractivas y biométricas basales para cada grupo se resumen en la Tablas 7,8 y 9.

**Tabla 7.** Mediciones basales de refracción y parámetros biométricos para niños hipermétropes.

Tamaño muestral	n=188			
Edad (años)	5 a 17 años (media: $8,23 \pm 2,62$ años)			
Género femenino (%)	81 (43,1%)			
	OD		OI	
	Media (SD)	Rango	Media (SD)	Rango
EE (D)	+ 5,71 (1,47)	+ 3,50 a + 11,75	+ 5,87 (1,46)	+ 3,50 a + 11,25
Esfera (D)	+ 6,20 (1,57)	+ 3,50 a + 12,00	+ 6,39 (1,53)	+ 3,50 a + 11,50
Cilindro (D)	-0,98 (0,88)	- 3,00 a 0,00	-1,05 (0,87)	- 3,00 a 0,00
K plana TOP (D)	41,99 (1,40)	38,10 a 46,00	42,03 (1,39)	38,40 a 46,60
K curva TOP (D)	43,54 (1,41)	39,78 a 47,64	43,61 (1,39)	39,87 a 47,30
K media TOP (D)	42,76 (1,33)	39,31 a 46,63	42,82 (1,32)	39,62 a 46,75
PCA TOP (mm)	2,88 (0,28)	2,23 a 4,03	2,89 (0,28)	2,20 a 3,89
WW TOP (mm)	11,99 (0,39)	11,2 a 12,91	11,97 (0,38)	11,13 a 13,00
GCC TOP ( $\mu\text{m}$ )	564,39 (30,68)	479 a 650	564,81 (31,26)	471 a 640
ACA TOP (grados)	40,51 (6,92)	13,4 a 65	40,49 (8,00)	26 a 66

<b>LA BIOM (mm)</b>	21,20 (0,83)	18,69 a 23,23	21,11 (0,84)	18,69 a 23,17
<b>K plana BIOM (D)</b>	42,06 (1,39)	38,64 a 46,11	42,08 (1,41)	38,64 a 46,11
<b>K curva BIOM (D)</b>	43,69 (1,44)	40,04 a 47,54	43,79 (1,42)	40,04 a 47,54
<b>K media BIOM (D)</b>	42,88 (1,33)	39,66 a 46,82	42,94 (1,34)	39,66 a 46,82
<b>PCA BIOM (mm)</b>	3,28 (0,26)	2,14 a 3,86	3,28 (0,27)	2,14 a 3,86
<b>WW BIOM (mm)</b>	12,19 (0,38)	11,30 a 13,10	12,16 (0,41)	11,20 a 13,20

ACA: Ángulo de cámara anterior; BIOM: Mediciones del IOL Master; EE: Equivalente esférico; GCC: Grosor córneoal central; K plana: Queratometría plana anterior; K curva: Queratometría curva anterior; K media: Queratometría media anterior; LA: longitud axial; OD: Ojo derecho; OI: Ojo izquierdo; PCA: Profundidad de cámara anterior; SD: desviación estándar; TOP: Mediciones del topógrafo; WW: Diámetro blanco-blanco.

**Tabla 8.** Mediciones basales de refracción y parámetros biométricos para niños emétopes.

<b>Tamaño muestral</b>	<b>n=52</b>			
<b>Edad (años)</b>	13 a 17 años (media: 16,48 ± 1,18 años)			
<b>Género femenino (%)</b>	25 (48,1%)			
	<b>OD</b>		<b>OI</b>	
	Media (SD)	Rango	Media (SD)	Rango
<b>EE (D)</b>	+0,07 (0,45)	-0,50 a +0,75	+0,07 (0,46)	-0,50 a +0,88
<b>Esfera (D)</b>	+0,14 (0,45)	-0,50 a +0,75	+0,14 (0,45)	-0,50 a +1,00
<b>Cilindro (D)</b>	-0,14 (0,24)	-1,00 a 0,00	-0,15 (0,26)	-1,00 a 0,00
<b>K plana TOP (D)</b>	42,54 (1,46)	39,46 a 45,79	42,62 (1,42)	39,75 a 45,73
<b>K curva TOP (D)</b>	43,12 (1,47)	39,91 a 46,02	43,35 (1,46)	40,27 a 46,42
<b>K media TOP (D)</b>	42,83 (1,45)	39,69 a 45,88	42,87 (1,46)	39,89 a 46,09
<b>PCA TOP (mm)</b>	3,28 (0,31)	2,45 a 3,81	3,26 (0,30)	2,41 a 3,75
<b>WW TOP (mm)</b>	12,12 (0,37)	11,22 a 12,93	12,13 (0,36)	11,18 a 12,88
<b>GCC TOP (µm)</b>	542,48 (34,64)	469 a 631	543,02 (34,82)	475 a 641

<b>ACA TOP (grados)</b>	45,87 (6,82)	28 a 61	44,60 (8,31)	16 a 62
<b>LA BIOM (mm)</b>	23,59 (0,73)	22,12 a 24,96	23,55 (0,72)	21,84 a 25,01
<b>K plana BIOM (D)</b>	42,61 (1,45)	39,71 a 45,30	42,56 (1,45)	39,56 a 45,82
<b>K curva BIOM (D)</b>	43,27 (1,44)	40,13 a 46,17	43,19 (1,48)	40,15 a 46,35
<b>K media BIOM (D)</b>	42,94 (1,44)	39,92 a 45,71	42,99 (1,43)	40,01 a 46,08
<b>PCA BIOM (mm)</b>	3,61 (0,32)	2,84 a 4,41	3,62 (0,30)	2,88 a 4,18
<b>WW BIOM (mm)</b>	12,20 (0,31)	11,70 a 13,00	12,23 (0,28)	11,80 a 13,10

ACA: Ángulo de cámara anterior; BIOM: Mediciones del IOL Master; EE: Equivalente esférico; GCC: Grosor córneoal central; K plana: Queratometría plana anterior; K curva: Queratometría curva anterior; K media: Queratometría media anterior; LA: longitud axial; OD: Ojo derecho; OI: Ojo izquierdo; PCA: Profundidad de cámara anterior; SD: desviación estándar; TOP: Mediciones del topógrafo; WW: Diámetro blanco-blanco.

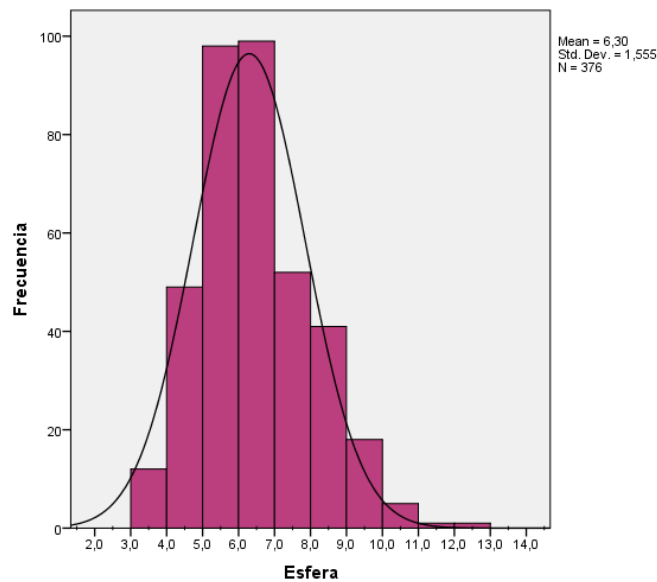
**Tabla 9.** Mediciones basales de refracción y parámetros biométricos para adultos emétopes.

<b>Tamaño muestral</b>	<b>n=163</b>			
<b>Edad (años)</b>	18 a 28 años (media: 22,26 ± 2,55 años)			
<b>Género femenino (%)</b>	103 (63,2%)			
	OD		OI	
	Media (SD)	Rango	Media (SD)	Rango
<b>EE (D)</b>	+0,05 (0,45)	-0,50 a 1,00	+0,05 (0,44)	-0,50 a 1,13
<b>Esfera (D)</b>	+0,16 (0,47)	-0,50 a 1,25	+0,19 (0,45)	-0,50 a 1,25
<b>Cilindro (D)</b>	-0,22 (0,25)	-1,00 a 0,00	-0,28 (0,25)	-1,00 a 0,00
<b>K plana TOP (D)</b>	43,30 (1,37)	40,40 a 46,60	43,43 (1,30)	40,81 a 46,17
<b>K curva TOP (D)</b>	43,93 (1,38)	40,87 a 47,00	44,13 (1,32)	41,31 a 47,20
<b>K media TOP (D)</b>	43,61 (1,36)	40,64 a 46,70	43,69 (1,33)	40,99 a 46,60
<b>PCA TOP (mm)</b>	3,19 (0,25)	2,54 a 3,81	3,19 (0,25)	2,54 a 3,78
<b>WW TOP (mm)</b>	12,10 (0,37)	11,22 a 12,88	12,08 (0,38)	11,13 a 13,60
<b>GCC TOP (µm)</b>	542,01 (37,67)	394,00 a 628,00	543,48 (36,42)	388 a 628
<b>ACA TOP (grados)</b>	44,16 (6,16)	29,00 a 64,00	43,50 (6,61)	26 a 66
<b>LA BIOM (mm)</b>	23,40 (0,71)	21,73 a 24,86	23,35 (0,72)	21,78 a 24,94
<b>K plana BIOM (D)</b>	43,35 (1,37)	40,47 a 46,49	43,36 (1,35)	40,73 a 46,30

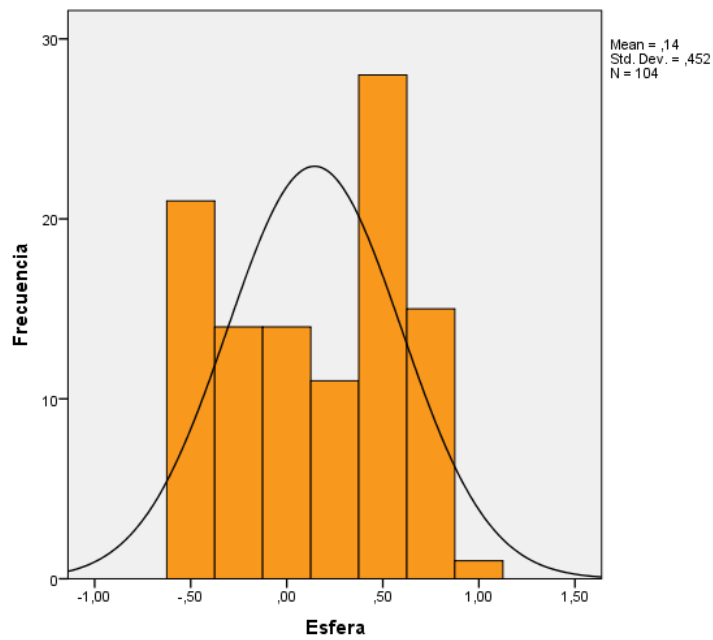
<b>K curva BIOM (D)</b>	44,03 (1,35)	40,86 a 47,34	44,01 (1,35)	41,24 a 46,90
<b>K media BIOM (D)</b>	43,69 (1,34)	40,67 a 46,80	43,78 (1,30)	41,06 a 46,62
<b>PCA BIOM (mm)</b>	3,62 (0,25)	2,75 a 4,47	3,63 (0,24)	2,73 a 4,43
<b>WW BIOM (mm)</b>	12,08 (0,56)	9,70 a 13,30	12,15 (0,41)	11,20 a 13,80

ACA: Ángulo de cámara anterior; BIOM: Mediciones del IOL Master; EE: Equivalente esférico; GCC: Grosor córneoal central; K plana: Queratometría plana anterior; K curva: Queratometría curva anterior; K media: Queratometría media anterior; LA: longitud axial; OD: Ojo derecho; OI: Ojo izquierdo; PCA: Profundidad de cámara anterior; SD: desviación estándar; TOP: Mediciones del topógrafo; WW: Diámetro blanco-blanco.

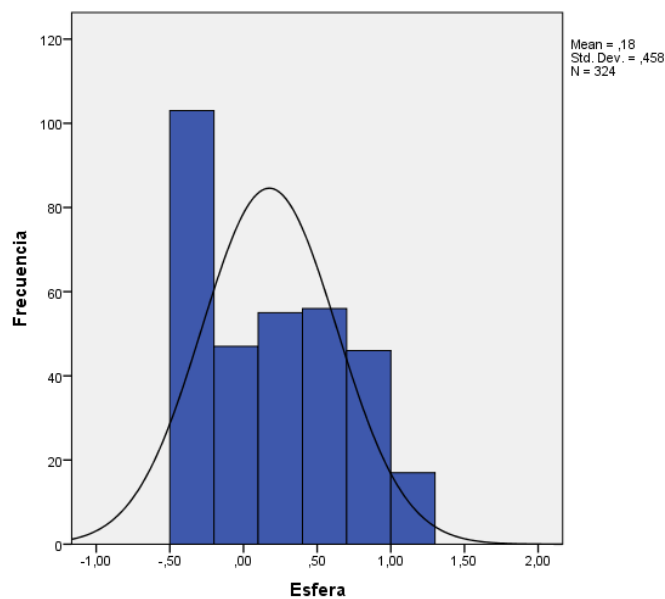
Presentamos una serie de histogramas en los que se puede observar el valor de la esfera en los 3 grupos de estudio (Figura 10).



**Figura 10A.** Esfera de niños hipermétropes (n= 376 ojos, media: +6,30D ± 1,55D).



**Figura 10B.** Esfera de niños emétopes (n= 104 ojos, media: 0,14D ± 0,45D).



**Figura 10C.** Esfera de los adultos emétopes (n= 324, media: 0,18D ± 0,46D)

Dentro del grupo de los casos (n=188), 101 (53,7%) no tenían ambliopía; 41 (21,8%) pacientes sufrían ambliopía en el ojo derecho y 46 (24,5%) en el ojo izquierdo. El grupo que padecía estrabismo se subdividió en 3 grupos: estrábicos (17,6%), anisométricos (9%) y mixtos (20,2%). Se recogió el tipo de tratamiento que recibieron los pacientes, clasificándolo en

oclusiones (45,2%), cirugía (0,5%) o ambas (4,3%). Por último se estudió también el tipo de estrabismo que padecían los pacientes, clasificándolo en horizontal y en vertical (Tabla 10).

**Tabla 10.** Descripción de las patologías y tratamientos recibidos en el grupo de los casos.

<b>Grupo casos (n=188)</b>			
<b>Ambliopía</b>	no		101 (53,7%)
	si	OD	41 (21,8%)
		OI	46 (24,5%)
<b>Estrabismo</b>	no		100 (53,2%)
	si	Estrábicos	33 (17,6%)
		Anisométricos	17 (9%)
		Mixtos	38 (20,2%)
<b>Tratamiento</b>	no		94 (50%)
	si	Oclusión	85 (45,2%)
		Cirugía	1 (0,5%)
		Ambos	8 (4,3%)

<b>Tipo de estrabismo</b>			
<b>Horizontal</b>	no		62 (33%)
	si	Endotropía congénita	2 (1,1%)
		Endotropía refractiva	29 (15,4%)
		Endotropía parcialmente acomodativa	82 (43,6%)
		Endotropía alta relación CA/A	5 (2,7%)
		Endotropía no acomodativa	2 (1,1%)
		Exotropía intermitente lejos/cerca	1 (0,5%)
		Microestrabismo	5 (2,7%)
<b>Vertical</b>	no		180 (95,7%)
	si	Músculos oblicuos	5 (2,7%)
		Desviación vertical disociada	3 (1,6%)

## 6.2. Resultados genéticos

### 6.2.1. Análisis de la asociación de los genotipos rs12536657 con la hipermetropía

Las frecuencias alélicas para el rs12536657 del gen *HGF* cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles ( $p = 0.123$ ).

En primer lugar se analizó la asociación de los genotipos y alelos del SNP rs12536657 con la hipermetropía. Las asociaciones genéticas se analizaron por separado entre los pacientes hipermétropes y los emétropes; entre los hipermétropes y el grupo de niños emétropes; y entre los hipermétropes y el grupo de adultos emétropes. No se identificó asociación entre la hipermetropía y el rs12536657 en ninguno de los grupos (Tabla 11).

**Tabla 11.** Distribución genotípica y alélica del rs12535367 del gen *HGF* entre hipermétropes y niños y adultos emétropes.

rs 12536657		Hipermétropes	Niños y adultos emétropes	p
<b>Genotipo</b>	GG	116 (62,7%)	135 (63,1%)	0,275
	GA	63 (34,1%)	65 (30,4%)	
	AA	6 (3,2%)	14 (6,5%)	
	Total	185 (100%)	214 (100%)	
<b>Alelo</b>		Hipermétropes	Niños y adultos emétropes	p
	G	295 (79,7%)	335 (78,3%)	0,617
	A	75 (20,3%)	93 (21,7%)	
	Total	370 (100%)	428 (100%)	

rs 12536657		Hipermétropes	Niños emétropes	p
<b>Genotipo</b>	GG	116 (62,7%)	34 (65,4%)	0,273
	GA	63 (34,1%)	14 (26,9%)	
	AA	6 (3,2%)	4 (7,7%)	
	Total	185 (100%)	52 (100%)	
<b>Alelo</b>		Hipermétropes	Niños emétropes	p
	G	295 (79,7%)	82 (78,8%)	0,841
	A	75 (20,3%)	22 (21,2%)	
	Total	370 (100%)	104 (100%)	

<b>rs 12536657</b>		<b>Hipermétropes</b>	<b>Emétropes adultos</b>	<b>p</b>
<b>Genotipo</b>	GG	116 (62,7%)	101 (62,3%)	0,410
	GA	63 (34,1%)	51 (31,5%)	
	AA	6 (3,2%)	10 (6,2%)	
	Total	185 (100%)	162 (100%)	
<b>Alelo</b>		Hipermétropes	Emétropes adultos	p
	G	295 (79,7%)	253 (78,1%)	0,596
	A	75 (20,3%)	71 (21,9%)	
	Total	370 (100%)	324 (100%)	

Las diferencias entre grupos se analizaron a través del test estadístico de Chi-Cuadrado.

Se realizó un estudio de la asociación de hipermetropía y el genotipo del SNP rs12536657 ajustado por género utilizando regresión logística. No se detectaron asociaciones significativas del genotipo rs12536657 con la hipermetropía en niños ni en adultos (Tabla 12).

**Tabla 12.** Resultados de regresión logística ajustado por género bajo un modelo genético aditivo.

<b>SNP rs12536657</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Hipermétropes (n=185) •</b>	<b>Emétropes niños y adultos (n=214)••</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>
					0,206
	GG	116 (62,70%)	135 (63,08%)	1	
	GA	63 (34,05%)	65 (30,37%)	1,18	0,458
	AA	6 (3,24%)	14 (6,54%)	0,47	0,136

<b>SNP rs12536657</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Hipermétropes (n=185) •</b>	<b>Emétropes niños (n=52)</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>
					0,300
	GG	116 (62,7%)	34 (65,4%)	1	
	GA	63 (34,1%)	14 (26,9%)	0,76	0,439
	AA	6 (3,2%)	4 (7,7%)	2,26	0,228



SNP rs12536657	Genotipo	Hipermétropes (n=185) •	Emétropes adultos (n=162) ••	OR	p
					0,230
	GG	116 (62,7%)	101 (62,3%)	1	
	GA	63 (34,1%)	51 (31,5%)	1,16	0,531
	AA	6 (3,2%)	10 (6,2%)	0,45	0,140

•Faltan 3 genotipos en el grupo de hipermétropes (n=185).

••Falta 1 genotipo en el grupo de adultos (n=214 y n=162).

Se realizó una regresión logística ajustada por género entre un conjunto de casos y controles estrictamente emparejados por edad con el fin de evaluar la existencia de una asociación entre la edad y el genotipo, no identificándose tampoco una asociación significativa ( $p=0.973$ ).

### 6.2.2. Análisis de la asociación de los genotipos rs12536657 con los rasgos cuantitativos biométricos y topográficos

Se incluyeron un total de 403 pares de ojos en el análisis de rasgos cuantitativos mediante ecuación de estimación generalizada univariada (GEE) ajustados por edad y género. Se observaron asociaciones univariadas significativas entre la curvatura de la córnea topográfica media ( $K_{media}$ ) y rs12536657 para los genotipos G/A (pendiente= + 0,32;  $p = 0,023$ ) y A/A (pendiente = + 0,76;  $p = 0,020$ ) con el modelo GEE ajustado por edad y género. Tanto el meridiano topográfico corneal plano y curvo se asociaron significativamente con los genotipos G/A y A/A del rs12536657. Se observó un efecto aditivo en la curvatura corneal en todas las mediciones topográficas con un aumento de diferencia media entre 0,31 D y 0,34 D para el genotipo G/A y entre 0,69 D y 0,83 D para el genotipo A/A, comparado con el genotipo homocigoto G/G (Tabla 13, Figuras 11 y 12). No se encontraron asociaciones significativas para ninguna de las otras variables topográficas (Tabla 14).

**Tabla 13.** Análisis univariante mediante GEE de la asociación de K media, K plana y K curva con los genotipos del SNP rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo ajustado para edad y el sexo.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K media (TOP) (D)</b>					<b>0,010</b>
	G/G (Ref.)	41,88			
	G/A	0,32	0,04	0,60	<b>0,023</b>
	A/A	0,76	0,12	1,40	<b>0,020</b>

K media: Queratometría media anterior (Dioptías).

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K plana (TOP) (D)</b>					<b>0,019</b>
	G/G (Ref.)	40,89			
	G/A	0,31	0,02	0,60	<b>0,036</b>
	A/A	0,69	0,06	1,31	<b>0,031</b>

K plana: Queratometría plana anterior (Dioptías).

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K curva (TOP) (D)</b>					<b>0,007</b>
	G/G (Ref.)	42,87			
	G/A	0,34	0,05	0,63	<b>0,021</b>
	A/A	0,83	0,16	1,51	<b>0,015</b>

K curva: Queratometría curva anterior (Dioptías).

**Tabla 14.** Análisis univariante mediante GEE de la asociación de profundidad de cámara anterior, blanco-blanco y grosor conreal central y espesor corneal apical con los genotipos del SNP rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo ajustado para edad y el sexo.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>PCA (TOP) (mm)</b>					0,787
	G/G (Ref.)	2,80			
	G/A	0,00	-0,06	0,05	0,875
	A/A	-0,04	-0,16	0,07	0,489

PCA: Profundidad de cámara anterior (mm).

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>WW (TOP) (mm)</b>					0,424
	G/G (Ref.)	11,98			
	G/A	-0,02	-0,10	0,07	0,703
	A/A	-0,13	-0,32	0,07	0,195

WW: Diámetro blanco-blanco (mm).

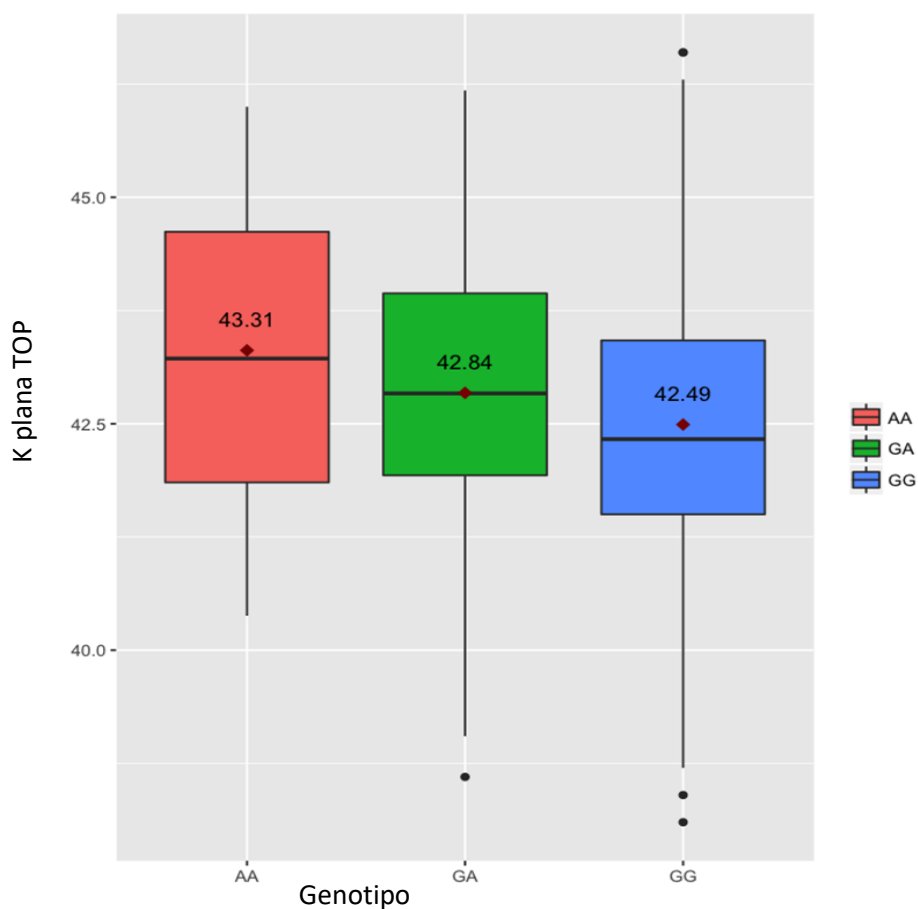
	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>GCC (TOP) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>					0,191
	G/G (Ref.)	578,63			
	G/A	-6,39	-13,37	0,60	0,073
	A/A	0,04	0,04	17,45	0,996

GCC: Grueso córneo central ( $\mu\text{m}$ ).

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>ECA (TOP) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>					0,812
	G/G (Ref.)	610,27			
	G/A	-3,70	-14,98	7,58	0,520
	A/A	-0,98	-23,72	21,77	0,933

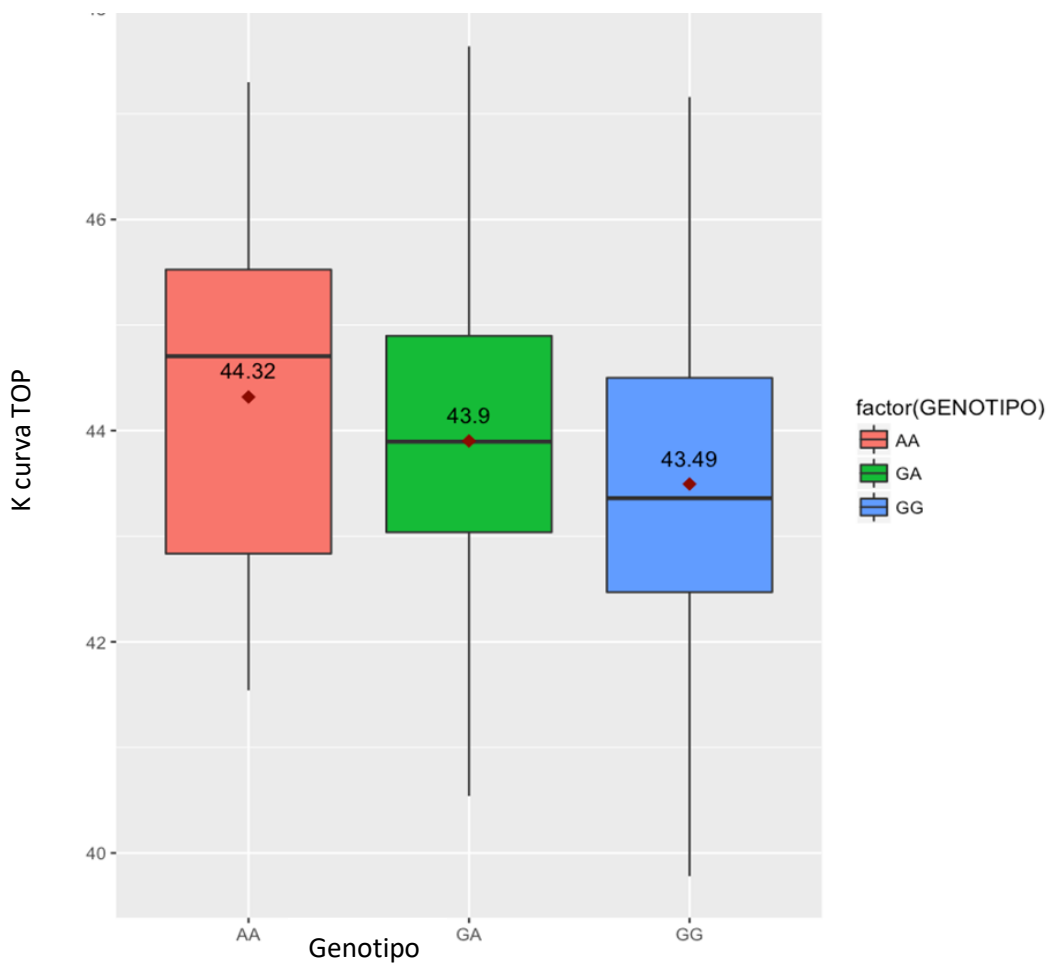
ECA: Espesor corneal apical ( $\mu\text{m}$ ).

Se observó un efecto aditivo para los genotipos heterocigotos y homocigotos menores en referencia al genotipo mayor homocigoto.



**Figura 11.** Se observa un diagrama de cajas en el que se ven los valores de la queratometría plana topográfica (D) para cada uno de los genotipos rs12536657. El diamante rojo indica el valor del meridiano corneal plano medio (con el valor que se muestra encima suyo).

Se observó un efecto aditivo para los genotipos heterocigotos y homocigotos menores en referencia al genotipo mayor homocigoto.



**Figura 12.** Se observa un diagrama de cajas en el que se ven los valores de la queratometría curva anterior topográfica (D) para cada uno de los genotipos rs12536657. El diamante rojo indica el valor del meridiano corneal curvo medio (con el valor que se muestra encima suyo).

Como se esperaba, cuando se analizaron las mediciones queratométricas del IOL Master (biómetro), se detectaron asociaciones significativas entre la curvatura corneal K media y los genotipos G/A (pendiente = + 0,29; p = 0,033) y A/A (pendiente= + 0,70; p = 0,026) de rs12536657. Los genotipos G/A y A/A de rs12536657 también mostraron una asociación significativa con K plana: A/A (pendiente= + 0,63; p = 0,049) y K curva G/A (pendiente = + 0,31; p = 0,027) y A/A (pendiente= + 0,78; p = 0,015) (Tabla 15). Por lo tanto, en base a los resultados de las pruebas univariadas, los pacientes con el alelo de riesgo A tendían a presentar una curvatura corneal más pronunciada tanto en K plana como en K curva independientemente de la edad y género del sujeto. Sin embargo, el astigmatismo topográfico y biométrico no se asoció

con ninguno de los genotipos. Ninguna de las otras mediciones refractivas o biométricas se asociaron de manera significativa con el SNP analizado (Tabla 15).

**Tabla 15.** Análisis univariante mediante GEE de la asociación de cada una de las mediciones refractivas y biométricas con los genotipos rs12536657 bajo un modelo genético aditivo ajustado por edad y sexo.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		<b>Bajo</b>	<b>Alto</b>	
<b>EE (D)</b>					0,930
	G/G (Ref.)	8,50			
	G/A	0,04	-0,27	0,34	0,817
	A/A	-0,07	-0,64	0,49	0,796

EE: Equivalente esférico.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>Cil (D)</b>					0,857
	G/G (Ref.)	-1,38			
	G/A	0,01	-0,12	0,14	0,885
	A/A	-0,05	-0,26	0,15	0,618

Cil: Cilindro.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>LA (BIOM) (mm)</b>					0,236
	G/G (Ref.)	20,29			
	G/A	-0,12	-0,28	0,05	0,166
	A/A	-0,22	-0,58	0,14	0,231

LA: Longitud Axial.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K media (BIOM) (D)</b>					0,857
	G/G (Ref.)	42,11			
	G/A	0,29	0,02	0,56	<b>0,033</b>
	A/A	0,70	0,08	3,75	<b>0,026</b>

K media: Queratometría media anterior.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K plana (BIOM) (D)</b>					0,857
	G/G (Ref.)	41,04			
	G/A	0,31	-0,01	0,55	0,055
	A/A	0,63	0,00	1,25	<b>0,049</b>

K plana: Queratometría plana anterior.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>K curva (BIOM) (D)</b>					0,857
	G/G (Ref.)	43,17			
	G/A	0,31	0,03	0,59	<b>0,027</b>
	A/A	0,78	0,15	1,41	<b>0,015</b>

K curva: Queratometría curva anterior.

	<b>Genotipo</b>	<b>Coficiente</b>	<b>95% CI</b>		<b>p</b>
	rs12536657		Bajo	Alto	
<b>PCA (BIOM) (mm)</b>					0,857
	G/G (Ref.)	3,15			
	G/A	-0,01	-0,07	0,04	0,680
	A/A	-0,08	-0,19	0,02	0,132

PCA: Profundidad de cámara anterior.

No se realizaron pruebas de asociación multivariable ya que la curvatura corneal fue la única variable significativa encontrada en el análisis univariado. De manera similar, cuando el GEE ajustado por sexo y edad se aplicó por separado en los casos y los controles, la curvatura de la córnea se mantuvo como la única variable que mostraba una tendencia significativa a la asociación con los genotipos rs12536657 (K media:  $p = 0,073$  en los casos y  $p = 0,082$  en los controles, ajustado por edad y género). La diferencia en el nivel de significación de las asociaciones al realizar los análisis por separado en los grupos de casos y controles, se puede atribuir al menor tamaño muestral.

## **DISCUSIÓN**



## 7. DISCUSIÓN

### 7.1. Situación actual en el tema de la hipermetropía

La hipermetropía es la principal causa de discapacidad visual en niños, pudiendo llegar a la pérdida irreversible de la visión o a la recuperación total si se trata a su debido momento. La hipermetropía y en particular la hipermetropía infantil, no constituyen un campo preferente de investigación debido a la tendencia actual hacia un aumento en la prevalencia de la miopía <sup>152</sup>. La hipermetropía causa una morbilidad ocular significativa en los niños y se asocia con ambliopía y estrabismo, afectando específicamente a este grupo de edad <sup>153, 154, 155</sup>. Un 20% de los niños menores de seis años presenta una hipermetropía no fisiológica, un error en el enfoque visual que en numerosas ocasiones es necesario corregir con lentes y que en adultos afecta a un 10% de la población. Cierta grado de hipermetropía es normal en la infancia y no requiere tratamiento ya que puede compensarse utilizando el mecanismo natural de enfoque (acomodación), este tipo se denomina hipermetropía fisiológica.

Dado que no es una enfermedad prevenible, los tratamientos se centran en el uso de la óptica y la prevención de complicaciones asociadas. Si bien los factores hereditarios están claramente involucrados <sup>128</sup>, todavía no se ha descubierto un gen clave para el desarrollo de la hipermetropía. La investigación sobre los mecanismos genéticos involucrados en la susceptibilidad al error refractivo en una cohorte pediátrica puede ayudar al desarrollo de futuros tratamientos para prevenir esta condición. Mientras tanto, la investigación sobre la predisposición genética temprana para desarrollar errores refractivos graves podría ser útil para diseñar programas de detección eficientes y rentables <sup>3</sup>.

Veerappan describió, por primera vez, la asociación de variantes genéticas específicas del gen *HGF* con hipermetropía en una población adulta australiana de origen étnico anglo-celta. Aunque la asociación entre el gen *HGF* con el error de refracción se había informado anteriormente y replicado previamente en varios estudios independientes en adultos en poblaciones chinas <sup>139</sup> y caucásicas <sup>140,4</sup>, consideramos científicamente relevante estudiar el impacto de variantes genéticas específicas del gen *HGF* en niños con hipermetropía moderada y alta.

El gen *HGF* tiene un tamaño aproximadamente de 70 Kb, se asigna a 7q21.11 y está compuesto por 18 exones. *HGF* constituye un gen candidato en un locus vinculado al control de la variación normal del tamaño del ojo en ratones. Por otro lado, *HGF* es también un potente mitógeno que se expresa en la córnea, la retina, el epitelio pigmentario y la coroides <sup>156,157</sup>. Veerappan y colaboradores encontraron que tanto el polimorfismo rs12536657 (en la posición de nucleótido 81350208, en el extremo 5' del exón 10) como el rs5745718 (en la posición de nucleótido 81347548, en la región intrónica entre los exones 10 y 11) estaban asociados con hipermetropía bajo un modelo genético aditivo. Como afirmaron, es probable que diferentes SNP puedan asociarse con la refracción en individuos de diferentes etnias, por lo que sus hallazgos deben replicarse en diferentes grupos étnicos <sup>4</sup>. No se han realizado estudios de replicación de sus resultados en otras poblaciones hasta el momento. Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue analizar las mismas variantes del gen *HGF* en una cohorte pediátrica porque, por un lado, los niños son la población afectada por las complicaciones más importantes de la hipermetropía y, por otro lado, las nuevas técnicas permiten realizar análisis genéticos de manera no convencional.

## **7.2. Consideraciones sobre la metodología de nuestro estudio**

Decidimos realizar un estudio multicéntrico contando con otros 4 hospitales de distintas ciudades de España (Madrid, Bilbao y Zaragoza) ya que nuestro objetivo era conseguir un tamaño muestral alto para que los resultados no estuvieran sesgados por el número de pacientes que hubieramos podido reclutar en un sólo hospital. Aunque el cálculo de potencia para este estudio sugiere que el tamaño actual de la cohorte por grupos (188 hipermétropes y 215 emétropes) es adecuado para detectar efectos genéticos modestos hasta un OR de 1,8, no podemos descartar la posibilidad que los efectos de menor tamaño no se hayan podido detectar. Por otro lado, el tamaño muestral por grupo en nuestro estudio es superior al de la cohorte empleada en el trabajo de Veerappan <sup>4</sup>.

Se incluyeron en el estudio un total de 403 individuos caucásicos (194 varones y 209 mujeres), incluyendo 188 niños hipermétropes (5 a 17 años; EE:  $\geq +3,50$  D), 52 niños emétropes (13 a 17 años; EE:  $> -0,50$  D  $< +1,25$  D) y 163 adultos jóvenes emétropes (18 a 28 años; EE:  $> -0,50$  D  $< +1,25$  D) como dos grupos de control separados aun sabiendo que por su edad no se puede considerar como niños. Un problema específico cuando se considera a los niños emétropes como un grupo de control en los estudios de error refractivo genético es la definición y la frecuencia de la emetropía infantil. En este sentido, ha sido un desafío categorizar a los niños como controles,

ya que el alargamiento ocular se desacelera en la segunda década de la vida y se estanca entre los 13 y los 18 años<sup>145</sup>, siendo un punto importante establecer la edad límite. Por tanto, nos encontramos frente a la primera limitación de nuestro estudio debido a la diferencia de edad entre casos y controles. Consideramos 2 grupos de controles emétopes para el análisis genético (niños y adultos jóvenes). Aunque incluimos un grupo de niños emétopes de 13 a 17 años, intencionalmente no incluimos a ningún niño de entre 5 y 13 años en este grupo debido a la dificultad de tener un grupo emetrópico estabilizado en esa edad en el que el ojo está en crecimiento<sup>158</sup>. Sabemos que una pequeña parte de los niños emétopes de 13 a 17 años de edad pueden desarrollar una miopía de inicio más tardío en el futuro, por lo que también realizamos los análisis con un grupo emétope de adultos jóvenes. Es importante destacar que la hipermetropía moderada y alta en estas edades se considera mucho más estable a lo largo del tiempo donde se aprecian escasos cambios refractivos. Además del hecho de que el genotipo no cambia durante la vida, los criterios de cambio en el análisis no apuntaron a la edad como un factor de confusión para los hallazgos encontrados en el estudio, y obtuvimos una confirmación similar a través del análisis de regresión logística condicionada. Además, las pruebas de asociación se ajustaron por edad y género cuando fue necesario.

Nuestro trabajo se ha centrado en el estudio de la hipermetropía ya que los niños son la población más afectada por las principales complicaciones de esta “patología” y la miopía presenta una morbilidad mucho menor en la infancia. Por este motivo, no se incluyó un grupo de pacientes con miopía en el análisis. Estudios recientes señalan los efectos específicos de la edad en las variantes genéticas asociadas con el error de refracción y la biometría ocular. De hecho, se ha determinado que los SNP relacionados con la predisposición difieren en la edad a la que están presentes los efectos, y que estos efectos se vuelven progresivamente más fuertes durante la infancia tardía<sup>146</sup>. Por ejemplo, en el caso de la miopía, un metanálisis sugirió que los *loci* específicos tienen su mayor efecto en los niños pequeños, mientras que otros alcanzan el mayor efecto durante los primeros años de la adolescencia<sup>147</sup>. Estas son algunas de las razones por las cuales seleccionamos cuidadosamente un grupo de niños con hipermetropía moderada - alta en lugar de un grupo de adultos con hipermetropía.

Por otro lado, nos encontramos con la segunda limitación de nuestro estudio al no tener participantes de todas las ciudades de España sino sólo de ciudades situadas al norte y centro del país. Será menos probable que grandes variaciones genéticas hayan estratificado a la

población, lo que podría afectar a los resultados. Esto permite minimizar los efectos potenciales de la mezcla poblacional y también abordar los reclamos de mayor diversidad en los estudios genéticos<sup>159,160</sup>.

Uno de los puntos fuertes de nuestro estudio se debe a que es el primer estudio multicéntrico de asociación genética en una cohorte de individuos hipermétropes pediátricos españoles que comprende una población relativamente grande y homogénea de ascendencia caucásica.

Además, la metodología respecto a la recogida de muestras y extracción del material genético, se realizó de la misma forma en todos los Hospitales que participaron en el estudio.

Veerappan y colaboradores identificaron 9 SNPs que incluían la mayor parte de la información genética del gen *HGF*. También secuenciaron las regiones codificantes del gen *HGF* y se identificaron otros 6 SNPs<sup>4</sup>. De los 15 SNPs de *HGF* analizados en su cohorte de emétropes, hipermétropes y miopes, encontraron 6 SNPs asociados con la miopía (rs1743, rs4732402, rs12536657, rs10272030, rs9642131 y rs5745646) y 2 con hipermetropía (rs5745718 y rs12536657), también en alto desequilibrio de ligamiento entre sí. Los mecanismos por los cuales el SNP rs12536657 se asocia con hipermetropía y miopía, no se han dilucidado en su totalidad pero es importante destacar que Yanovitch y colaboradores también detectaron una asociación de este SNP con la miopía<sup>140</sup>. Nos encontramos ante la tercera limitación de nuestro estudio ya que sólo analizamos una variante del gen *HGF* (rs12536657), por lo que se ha logrado una cobertura limitada de la información del gen *HGF*. Los motivos de elección del SNP rs12536657 fueron:

- El SNP rs12536657 se asoció con baja miopía e hipermetropía en el estudio de Veerappan<sup>4</sup> y por tanto, podría ser un candidato de mayor relevancia para la asociación de errores refractivos que el rs5745718.
- En el estudio de Veerappan cuando se compararon los grupos hipermetrópicos y emetrópicos para rs12536657 bajo un modelo aditivo, cada uno de los genotipos se encontró con un OR significativa en aumento para cada copia adicional del alelo de riesgo (G/G: 1; G/A: 1,88; A/A: 5,53). En el caso del marcador rs5745718 solo se encontró que el genotipo C/A estaba asociado con la hipermetropía<sup>4</sup>.

### **7.3. Asociación del SNP rs12536657 con la hipermetropía**

Las pruebas genotípicas obtenidas en nuestro estudio no apoyaron la asociación del SNP del gen *HGF* con la hipermetropía para la población pediátrica española en ninguno de los grupos: entre pacientes hipermétropes y emétropes, entre hipermétropes y emétropes niños y entre hipermétropes y emétropes adultos. Igualmente, las pruebas alélicas dieron unos resultados no significativos para rs12536657 y la hipermetropía en los diferentes grupos: entre pacientes hipermétropes y emétropes, entre hipermétropes y emétropes niños y entre hipermétropes y emétropes adultos. La discrepancia entre los resultados de nuestro estudio y los de Veerappan y colaboradores <sup>4</sup> puede estar parcialmente relacionada con que nuestro estudio se centró en una población caucásica española, mientras que Veerappan realizó su estudio en una población de etnia anglo-celta dónde la genética y los factores ambientales pueden influir de manera completamente distinta. Sabemos que según la situación geográfica de los distintos grupos étnicos existe una distribución alélica significativamente diferente, por eso es probable que diferentes SNPs puedan estar asociados con la refracción en individuos de diferentes etnias.

Existen otras diferencias entre nuestro estudio y el de Veerappan. Aunque el genotipo no cambia durante la vida, analizamos diferentes poblaciones de edad. Además, los dos estudios utilizaron diferentes grados de hipermetropía como criterios de inclusión: la definición de hipermetropía de Veerappan y colaboradores (SE > +2.00 D) difiere de la nuestra (SE > +3.50 D). Al tratar con una población infantil, decidimos incluir solo hipermetropías moderadas y altas para incluir la población potencial que tiene una mayor morbilidad causada por la hipermetropía <sup>161,60,129</sup>, y también para establecer una clara distinción con el grupo emetrópico (SE > -0.50 D < +1.25).

### **7.4. Asociación SNP rs12536657 con parámetros cuantitativos oculares: curvatura corneal**

Otro de nuestros objetivos consistió en valorar la posible asociación del SNP rs12536657 con los principales parámetros biométricos oculares que determinan el estado refractivo ocular. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio multicéntrico de asociación de rasgos cuantitativos de un SNP del gen *HGF* y parámetros biométricos oculares en una cohorte pediátrica constituyendo un punto fuerte de nuestro trabajo.

Los análisis de rasgos cuantitativos tienen en cuenta el aspecto completo de las medidas y constituyen una herramienta poderosa para detectar contribuciones genéticas, en general tienen varias ventajas frente a los estudios de casos y controles <sup>162</sup>. Dado que es probable que pocos genes puedan tener impacto frente a los distintos endofenotipos que afectan a la hipermetropía (al fenotipo) como es el caso de la longitud axial o la curvatura de la córnea <sup>126</sup>, el analizar estos rasgos intermedios de forma independiente probablemente resulte más beneficioso para poder detectar variantes asociadas con estos fenotipos <sup>163</sup>. La curvatura corneal y la longitud axial son las principales medidas biométricas (endofenotipos) que establecen el estado refractivo del ojo. La córnea es el elemento refractivo más importante, y su curvatura debe coordinarse completamente con las dimensiones de los otros componentes del ojo en crecimiento durante la infancia. Klein estudió la estimación de heredabilidad para la curvatura de la córnea y fue muy alta, del 95% <sup>163</sup>.

A cada uno de los pacientes se le realizó una biometría (IOLMaster 500<sup>®</sup>) donde se determina la longitud axial, la medida de la curvatura de la córnea tanto la queratometría plana anterior como la curva y la media entre las 2, la profundidad de la cámara anterior, la distancia blanco-blanco, el espesor apical y central de la córnea de ambos ojos en todos los pacientes. Y también un análisis topográfico (Sirius<sup>®</sup>) donde se analizaba la curvatura de la córnea (valores SimK, meridiano de la curvatura corneal plana y curva, queratometría media), el grosor corneal medio, blanco-blanco, la profundidad de la cámara anterior y la medida del ángulo iridocorneal de ambos ojos. Tras la realización de dichas pruebas a todos los pacientes que participaban en el estudio, tanto casos como controles, se les hacía una refracción tras la instilación de las gotas cicloplégicas y también una valoración del fondo de ojo. Podemos considerar este procedimiento como nuestro tercer valor añadido a nuestra tesis <sup>164</sup>. El interés principal en los estudios genéticos oftalmológicos, para rasgos cuantitativos, es identificar *loci* genéticos que ejerzan efectos en ambos ojos. El uso de promedio de las medidas oculares ha sido el acuerdo al que se ha llegado en la comunidad de investigación de la genética de errores refractivos. Sin embargo, el método GEE permite utilizar correctamente la información para ambos ojos y se considera que es más robusto que el uso de la media de las mediciones de ambos ojos o los datos de un ojo elegido al azar <sup>165</sup> y por eso escogimos este método para analizar estadísticamente nuestros resultados incluyendo por tanto todos los datos recogidos de los dos ojos de cada participante.

Mediante el método GEE observamos que existía una asociación significativa entre las mediciones de curvatura corneal y el alelo A de rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo. Cabe destacar que estas asociaciones se detectaron de manera independiente a la edad y el género, utilizando dos métodos de medición diferentes (biómetro y topógrafo) e incluyendo datos de 806 ojos. Se observó, en el biómetro, un aumento medio en la curvatura corneal en ambos meridianos de entre 0,31 D para el genotipo G/A y entre 0,63 D y 0,78 D para el genotipo A/A en comparación con los pacientes con genotipo homocigoto G/G. Por tanto, los pacientes con el alelo A en su genotipo (en homo o heterocigosis) tienden a presentar una curvatura corneal más pronunciada. Del mismo modo encontramos, con el topógrafo, un aumento medio en la curvatura corneal en ambos meridianos de entre 0,31 D y 0,34 D para el genotipo G/A y entre 0,69 D y 0,83 D para el genotipo A/A en comparación con los pacientes con genotipo homocigoto G/G. Es interesante observar que un conjunto de variantes genéticas compartidas son en gran parte responsables de la relación proporcional entre la curvatura corneal y la longitud axial <sup>166</sup>. Aunque la hipermetropía es predominantemente de naturaleza axial en niños, se ha demostrado una correlación lineal entre la longitud axial y la curvatura corneal. Los ojos emétopes, más cortos, generalmente tienen córneas más curvas para contrarrestar el impacto de la longitud axial en la refracción, esto se denomina el "factor de estabilización" <sup>92</sup>. Por tanto nuestros hallazgos podrían deberse al menos parcialmente a este efecto de correlación.

La asociación encontrada en nuestro estudio entre las características de la córnea y el gen *HGF* puede fundamentarse desde el punto de vista de la expresión y algunas de las funciones de gen *HGF*. Así, el locus del gen *HGF* está relacionado con el control de la variación normal del tamaño del ojo en ratones y también es un potente mitógeno expresado en la córnea, retina, epitelio pigmentario y coroides <sup>170</sup>. Parece probable que el gen *HGF* tenga algún papel en el desarrollo de la córnea y en el mantenimiento de la estructura normal en la córnea adulta<sup>167</sup>. Independientemente de su implicación en varias funciones celulares dentro de la córnea <sup>145</sup>, se sabe que el gen *HGF* y su receptor *MET* se expresan en la córnea en las tres capas celulares <sup>156</sup>. Algunas variantes genéticas de *MET* han mostrado una tendencia a estar asociadas con la curvatura de la córnea, aunque no fueron estadísticamente significativas después de la corrección de múltiples comparaciones <sup>141</sup>.

Otros autores también han estudiado la asociación entre variantes del gen *HGF* con patología y diversas características de la córnea. Por ejemplo, distintas variantes de *HGF* se han asociado con el queratocono <sup>155</sup> e incluso se ha informado de un aumento de la expresión de la proteína *HGF* en el epitelio corneal en pacientes con queratocono <sup>145</sup>. El queratocono es una enfermedad progresiva de la córnea con una incidencia del 1/2000 habitantes que puede conducir a la deficiencia visual grave o incluso a la ceguera. Aunque varias regiones genómicas se han relacionado con las formas familiares raras de queratocono, hasta la fecha todavía no se ha identificado ningún gen asociado con las formas más comunes de la enfermedad. Burdon y colaboradores proponen como solución realizar un estudio con pacientes con queratocono de mayor gravedad y un mayor número de controles para la mejor comprensión de los resultados obtenidos en su estudio de pacientes caucásicos reclutados de diferentes cohortes <sup>156</sup>. En el estudio se determinó una relación entre los SNPs rs3735520, rs17501108 y rs1014091 y los niveles séricos de *HGF* de los pacientes con queratocono.

La asociación del gen *HGF* y la curvatura corneal ha sido estudiada por Sahebjada y colaboradores, quienes analizaron 10 SNPs del gen *HGF* en un estudio de casos y controles en pacientes con queratocono. En este estudio no fueron capaces de replicar directamente los SNPs asociados en el estudio de Burdon con el queratocono <sup>156</sup>; esto podría apuntar a varias variantes genéticas o a la existencia de heterogeneidad genética en la población con queratocono, ya que en este estudio se unió una cohorte independiente de individuos europeos. En cualquier caso, Sahebjada no pudo detectar ninguna asociación significativa entre los 10 SNPs elegidos y la curvatura corneal, siendo el SNP rs2286194 el más significativamente relacionado <sup>168</sup>. Curiosamente, Yanovitch y colaboradores, informaron que el mismo SNP presentaba una asociación fuerte con miopía leve a moderada <sup>140</sup>. Por tanto, la asociación de la curvatura corneal con el SNP rs12536657 identificada en este trabajo no ha sido previamente descrita.

Por otro lado, no se encontró que el astigmatismo corneal estuviera asociado con el SNP rs12536657, de manera similar a lo que se ha descrito para otras variantes genéticas que, a pesar de estar asociadas con la curvatura corneal en GWAS grandes <sup>169</sup>, no se asociaron con el astigmatismo <sup>162,164</sup>. Este hallazgo resalta el hecho de que, si bien la curvatura corneal es una dimensión ocular, el astigmatismo corneal es un trastorno ocular que probablemente involucra un grupo distinto de genes <sup>170</sup>.



Ninguna de las otras mediciones refractivas o biométricas (equivalente esférico, longitud axial, profundidad de cámara anterior, blanco-blanco, grosor corneal central, espesor corneal apical) se asociaron de manera significativa con el SNP analizado (tanto los datos del biómetro como los del topógrafo). Como ya hemos indicado previamente, no se realizaron pruebas de asociación multivariable ya que la curvatura corneal fue la única variable significativa encontrada en el análisis univariado. Sin embargo, hemos de tener en cuenta que tampoco los parámetros de curvatura de la córnea seguían siendo estadísticamente significativos después de la corrección de comparaciones múltiples, aunque mostraron una tendencia a la significación.

Para finalizar decir que, aunque nuestros hallazgos solo cubren una faceta de la compleja naturaleza poligénica del fenotipo estudiado, nuestros resultados indican un papel potencial del SNP rs12536657 en la curvatura corneal en nuestra población de estudio. Por tanto, los pacientes con el alelo A en su genotipo (en homo o heterocigosis) tienden a presentar una curvatura corneal más pronunciada. Sabemos que al estudiar solo un marcador genético es difícil y poco fiable desarrollar un sistema de detección precoz de la hipermetropía por esta vía. Sería de gran interés realizar trabajos adicionales con el fin de estudiar el resto de variantes del gen *HGF* y otros genes relacionados con la hipermetropía y la curvatura corneal para confirmar estos hallazgos en diferentes grupos étnicos. Gracias a las técnicas actuales de análisis genético podemos realizar análisis exhaustivos de manera rápida y eficiente, y además de manera poco invasiva y no dolorosa para el paciente, hecho fundamental para realizar estudios en la población infantil.

#### **7.5. Otras asociaciones genéticas con la hipermetropía**

Aunque no es el objetivo de la presente tesis, la hipermetropía patológica o nanofthalmos es un trastorno ocular de herencia autosómica dominante que se caracteriza por tener una longitud axial corta (17,55 mm - 19,28 mm), alta incidencia de glaucoma de ángulo estrecho y otras características anatómicas patológicas que pueden conducir a complicaciones oculares severas y una refracción de hipermetropía habitualmente muy alta. Existen varios trastornos genéticos y genes que se asocian a dichas alteraciones en diversos grados (nanofthalmo, microftalmia, anoftalmia) <sup>171</sup>. *NNO1* (nanophthalmos 1) es el primer *locus* humano asociado con nanofthalmos o con glaucoma de ángulo cerrado <sup>172</sup>. Ha sido identificado un gen para el nanofthalmos aislado,

es la proteína tipo membrana relacionada con frizzled (*MFRP*), asociado con el *locus* genético *NNO2* en el cromosoma 11q23.3<sup>173</sup>. Hornbeak y colaboradores presentaron una hipótesis según la cual *MFRP* presentaba un papel fundamental en la regulación de la longitud axial<sup>174</sup>.

Por otra parte, desde la publicación de los hallazgos de Veerappan y colaboradores, otras variantes genéticas han sido asociadas con la hipermetropía no patológica. Así, Solouki y colaboradores llevaron a cabo un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) para errores refractivos en 5.328 individuos holandeses<sup>98</sup>. Identificaron dos asociaciones significativas con hipermetropía en el cromosoma 15q14 que se encuentra dentro de una región intergénica en la vecindad de los genes *proteína delta-2* de la unión Gap (*GJD2*) y *actina alfa del músculo cardíaco 1* (*ACTC1*), dos genes que se expresan en la retina y son posibles genes candidatos para el error refractivo<sup>98</sup>. Los GWAS son estudios de asociación del genoma completo (en inglés Genome-Wide Association Study o WGAS: Whole Genome Association Study). Consisten en el análisis de una variación genética a lo largo de todo el genoma humano con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo observable.

Los ratones con la Serina Proteasa 56 (*PRSS56*) mutada, muestran un fenotipo de glaucoma de ángulo cerrado con una longitud axial ocular más acortada de lo normal. En humanos, las mutaciones de este gen se asocian con microftalmia posterior y nanofthalmos. Jiang y colaboradores identificaron varias variantes en *PRSS56* asociadas con hipermetropía alta<sup>175</sup>. Llevaron a cabo un estudio con un total de 561 participantes, incluidos 189 individuos con glaucoma de ángulo cerrado, 110 individuos con hipermetropía alta ( $EE \geq +5.00$  D) y 262 sujetos emétopes ( $EE$  entre  $-0.5$  D y  $<+0.5$  D). Se detectaron 11 variantes, de las cuales 10 fueron novedosas, con 15 alelos, en 14 pacientes (5 pacientes con glaucoma de ángulo cerrado y 9 con hipermetropía alta). La frecuencia de las variantes en los pacientes con hipermetropía alta difería significativamente de la de los controles ( $p = 0,003$ ). Los resultados indican que las variantes en *PRSS56* pueden estar implicadas en glaucoma de ángulo cerrado y de la alta hipermetropía.

Li y colaboradores<sup>176</sup> llevaron a cabo un metanálisis de defectos refractivos (miopía y hipermetropía) de los resultados de 9 GWAS de poblaciones derivadas de Europa: AREDS, KORA, FES, OGP-Talana, MESA, RSI, RSII, RSIII y ERF. Todos los individuos eran de ascendencia

Europea. Este estudio incluyó un metanálisis de estadísticas agregadas de varios estudios. Se observó una región significativa de todo el genoma para la miopía, correspondiente a un locus de miopía previamente identificado en 8q12. También descubrieron 2 asociaciones significativas en todo el genoma con la hipermetropía, estas regiones se superponen con los loci en 15q14 y 8q12, ya descritas en estudios anteriores. Estos resultados indican que los fundamentos genéticos de los errores de refracción son bastante complejos y que los análisis de los fenotipos cualitativos y cuantitativos pueden contribuir a nuestra comprensión de la causa del error de refracción.

En cualquier caso, el error de refracción y la escala de los componentes oculares son fenotipos tan complejos que están influenciados por tantas variantes genéticas comunes y factores ambientales que su estudio seguirá siendo un desafío durante los próximos años <sup>177,178</sup>.

#### **7.6. Otras asociaciones genéticas con la curvatura corneal**

La curvatura corneal es un determinante clave del poder refractivo del ojo y sobretodo tiene un papel muy importante en algunas enfermedades oculares como el queratocono, la miopía y el astigmatismo corneal. Varios estudios GWAS han encontrado algunos genes implicados en la curvatura de la córnea.

Han y colaboradores llevaron a cabo un estudio en el que examinaron 2867 individuos chinos y 3072 malayos, lo que les permitió identificar dos loci que han mostrado una asociación significativa en todo el genoma con una variación normal en la curvatura de la córnea: la proteína 1 asociada al complejo de rapamicina (FRAP1) en el cromosoma 1p36.2 y el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRA) en el cromosoma 4q12 <sup>159</sup>. Este es el primer estudio genómico, de origen asiático, que analiza la variación de la curvatura corneal en el que han identificado 2 loci implicados en tres poblaciones asiáticas genéticamente diversas, lo que sugiere la presencia de una etiología genética común en múltiples poblaciones. Aún no se ha informado si estas variantes influyen en otros parámetros oculares, como la longitud axial.

Guggenheim y colaboradores <sup>166</sup> llevaron a cabo un estudio en el que participaban niños blancos europeos con una media de edad de 15 años (intervalo de confianza del 95%: 15,45 - 15,48 años). El radio de curvatura corneal y la longitud axial del ojo se midieron con un IOLmaster. Las

muestras de ADN se genotiparon con arrays Illumina. Se analizó la asociación entre la curvatura de la córnea y el genotipo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), en todo el genoma utilizando el género como covariable (n = 2023; 46.6% hombres). La variante que muestra la evidencia más fuerte de asociación con la curvatura corneal [rs6554163; p =  $2.8 \times 10^{-6}$ ] se ubicó en el mismo bloque de desequilibrio de ligamiento que las variantes de PDGFRA descubiertas previamente. Además, estas variantes de PDGFRA se asociaron con la longitud axial del ojo, prediciendo un 0,6% de la variación del rasgo normal. Como en los asiáticos, las variantes en el locus PDGFRA influyen en la curvatura corneal y en el astigmatismo corneal. Sin embargo, en lugar de afectar la curvatura de la córnea de forma aislada, éste influye en el tamaño del ojo mientras mantiene su escala.

## **CONCLUSIONES**

## 8. CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en nuestro estudio (tanto las pruebas genotípicas como las alélicas) no apoyan la asociación del SNP rs12536657 del gen *HGF* con la hipermetropía ( $\geq +3.50$  D) para nuestra población pediátrica española.
2. Se encontró una asociación significativa entre la K plana y el alelo A del marcador rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo tanto en las mediciones del biómetro como en las del topógrafo en nuestra población pediátrica de estudio.
3. Se observó una asociación significativa entre la K curva y el alelo A del marcador rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo tanto en las mediciones del biómetro como en las del topógrafo.
4. Se halló una asociación significativa entre la K media (entre el valor de K plana y K curva) y el alelo A del marcador rs12536657 del gen *HGF* bajo un modelo genético aditivo tanto en las mediciones del biómetro como en las del topógrafo.
5. Ninguna de las otras mediciones refractivas o biométricas (equivalente esférico, longitud axial, profundidad de cámara anterior, astigmatismo corneal, blanco-blanco, grosor corneal central, espesor corneal apical) se asociaron de manera significativa con el SNP rs12536657 analizado (tanto los datos del biómetro como los del topógrafo) en nuestra población de estudio.

## **BIBLIOGRAFÍA**

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Wojciechowski, R. Nature and nurture: the complex genetics of myopia and refractive error. *Clin. Genet.* 79, 301–20 (2011).
2. Hashemi H, Fotouhi A, Y. A. and P. R. Global and regional estimates of prevalence of refractive errors: Systematic review and meta-analysis. *J Curr Ophthalmol* 30(1), 3–22
3. Young, T. L., Metlapally, R. & Shay, A. E. Complex trait genetics of refractive error. *Arch. Ophthalmol.* 125, 38–48 (2007).
4. Veerappan, S. *et al.* Role of the hepatocyte growth factor gene in refractive error. *Ophthalmology* 117, 239-45.e1–2 (2010).
5. Solans T, García J, Cárceles JA, Martínez A, R. J. Refracción Ocular y Baja visión. in *Ponencia Oficial* (2003).
6. Khor, C. C. Support for TGFB1 as a Susceptibility Gene for High Myopia in Individuals of Chinese Descent. *Arch. Ophthalmol.* 128, 1081 (2010).
7. Goss David A, W. R. W. *Introduction to the optics of the eye.* (2002).
8. gregory L. Skuta, Louis B. Cantor, J. S. W. Pediatric Ophthalmology and Strabismus. in *Basic and Clinical Science Course American Academy of Ophthalmology* 179 (2012).
9. H, H. Treatise on Physiological Optics, Optical Society of America. in vol 1, p 392. (1924).
10. Saunders, K. J. Early refractive development in humans. *Surv. Ophthalmol.* 40, 207–16 (1995).
11. Mutti, D. O. To emmetropize or not to emmetropize? The question for hyperopic development. *Optom. Vis. Sci.* 84, 97–102 (2007).
12. Zadnik K, M. DO. Incidence and Distribution od refractive anomalies. in *Clinical Refraction* (ed. W, B.) 35 (2006).
13. Flitcroft, D. I. A model of the contribution of oculomotor and optical factors to emmetropization and myopia. *Vision Res.* 38, 2869–79 (1998).
14. Brown, N. P., Koretz, J. F. & Bron, a J. The development and maintenance of emmetropia. *Eye (Lond).* 13 ( Pt 1), 83–92 (1999).
15. Summers, J. a. The choroid as a sclera growth regulator. *Exp. Eye Res.* 09391, 1–8 (2013).
16. Rymer, J. & Wildsoet, C. F. The role of the retinal pigment epithelium in eye growth regulation and myopia: a review. *Vis. Neurosci.* 22, 251–61 (2005).
17. Rada JA, McFarland AL, C. P. Proteoglycan synthesis by scleral chondrocytes is modulated by a vision dependent mechanism. *Curr. Eye Res.* 11(8), 767–82 (1992).
18. Siegwart, J. T. & Norton, T. T. Perspective: how might emmetropization and genetic factors produce myopia in normal eyes? *Optom. Vis. Sci.* 88, E365-72 (2011).
19. Sherman, S. M., Norton, T. T. & Casagrande, V. A. Myopia in the lid-sutured tree shrew (*Tupaia glis*). *Brain Res.* 124, 154–7 (1977).
20. Wallman, J. & McFadden, S. Monkey eyes grow into focus. *Nat. Med.* 1, 737–9 (1995).
21. Troilo, D. & Wallman, J. The regulation of eye growth and refractive state: an experimental study of emmetropization. *Vision Res.* 31, 1237–50 (1991).
22. Norton, T. T., Amedo, A. O. & Siegwart, J. T. Darkness causes myopia in visually



- experienced tree shrews. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47, 4700–7 (2006).
23. Meyer, C., Mueller, M. F., Duncker, G. I. & Meyer, H. J. Experimental animal myopia models are applicable to human juvenile-onset myopia. *Surv. Ophthalmol.* 44 Suppl 1, S93-102 (1999).
  24. Rabin, J., Sluyters, R. Van & Malach, R. Emmetropization: a vision-dependent phenomenon. *Investig. Ophthalmol. Vis. ...* 20, 561–4 (1981).
  25. von Noorden, G. K. & Lewis, R. a. Ocular axial length in unilateral congenital cataracts and blepharoptosis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 28, 750–2 (1987).
  26. Troilo, D. Neonatal eye growth and emmetropisation--a literature review. *Eye (Lond)*. 6 ( Pt 2), 154–60 (1992).
  27. RC, A. On the growth and internal structure of the human lens. *Exp. Eye Res.* 90, 643–654 (2010).
  28. Jones, L. a *et al.* Comparison of ocular component growth curves among refractive error groups in children. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46, 2317–27 (2005).
  29. Rucker FJ, Zhu X, Bitzer M, Schaeffel F, W. J. Interocular interactions in lens compensation: yoking and anti-yoking. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 E-Abstract 3931 (2009).
  30. RA, G. Refractive Development of Human Eye. *Arch Ophthalmol* 103(6), 785–789 (1985).
  31. AH, G. K. and K. Excess of the human refraction curve and its cause. *Ophthalmic Ultrasound. An Int. Symp.* 142–148 (1969).
  32. Sorsby, A., Benjamin, B., Sheridan, M., Stone, J. & Leary, G. A. Refraction and its components during the growth of the eye from the age of three. *Memo. Med. Res. Counc.* 301(Specialia, 1–67 (1961).
  33. Mutti, D. O. *et al.* Axial growth and changes in lenticular and corneal power during emmetropization in infants. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46, 3074–80 (2005).
  34. Hung, L. F., Wallman, J. & Smith, E. L. Vision-dependent changes in the choroidal thickness of macaque monkeys. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 1259–69 (2000).
  35. Fredrick, D. R. Myopia. *BMJ* 324, 1195–9 (2002).
  36. Dirani, M., Shekar, S. N. & Baird, P. N. Evidence of shared genes in refraction and axial length: the Genes in Myopia (GEM) twin study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 49, 4336–9 (2008).
  37. Zhu, G. *et al.* Genetic dissection of myopia: evidence for linkage of ocular axial length to chromosome 5q. *Ophthalmology* 115, 1053–1057.e2 (2008).
  38. Sorsby A, Leary GA, R. M. Correlation ametropia and component ametropia. *Vis. Res* 2, 309–13 (1961).
  39. Davis-Silberman, N. *et al.* Genetic dissection of Pax6 dosage requirements in the developing mouse eye. *Hum. Mol. Genet.* 14, 2265–76 (2005).
  40. Del Rio-Tsonis, K., Washabaugh, C. H. & Tsonis, P. A. Expression of pax-6 during urodele eye development and lens regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 5092–6 (1995).
  41. Chen, J. H. *et al.* Endophenotyping reveals differential phenotype-genotype correlations between myopia-associated polymorphisms and eye biometric parameters. *Mol. Vis.* 18, 765–78 (2012).

42. Bassnett, S. & Beebe, D. C. Localization of insulin-like growth factor-1 binding sites in the embryonic chicken eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31, 1637–43 (1990).
43. Lam, C. S., Edwards, M., Millodot, M. & Goh, W. S. A 2-year longitudinal study of myopia progression and optical component changes among Hong Kong schoolchildren. *Optom. Vis. Sci.* 76, 370–80 (1999).
44. Jobling, A. I., Nguyen, M., Gentle, A. & McBrien, N. A. Isoform-specific changes in scleral transforming growth factor-beta expression and the regulation of collagen synthesis during myopia progression. *J. Biol. Chem.* 279, 18121–6 (2004).
45. Ashby, R. S. & Feldkaemper, M. P. Gene expression within the amacrine cell layer of chicks after myopic and hyperopic defocus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51, 3726–35 (2010).
46. Resnikoff, S. & Pararajasegaram, R. Policy and Practice Theme Papers Blindness prevention programmes : past , present , and future. 79, 222–226 (2001).
47. Dandona, R. & Dandona, L. Refractive error blindness. 79, 237–243 (2001).
48. Wensor, M., Mccarty, C. A. & Taylor, H. R. Prevalence and risk factors of myopia in Victroia, Australia. 117, 658–663 (1999).
49. Kempen, J. H. *et al.* The prevalence of refractive errors among adults in the United States, Western Europe, and Australia. *Arch. Ophthalmol.* 122, 495–505 (2004).
50. Weale, R. A. Epidemiology of refractive errors and presbyopia. *Surv. Ophthalmol.* 48, 515–543 (2003).
51. Saw, S.-M. A synopsis of the prevalence rates and environmental risk factors for myopia. *Clin. Exp. Optom.* 86, 289–94 (2003).
52. Lin, L. L. K., Shih, Y. F., Hsiao, C. K. & Chen, C. J. Prevalence of myopia in Taiwanese schoolchildren: 1983 to 2000. *Ann. Acad. Med. Singapore* 33, 27–33 (2004).
53. Bourne, R. R. a, Dineen, B. P., Ali, S. M., Noorul Huq, D. M. & Johnson, G. J. Prevalence of refractive error in Bangladeshi adults: results of the National Blindness and Low Vision Survey of Bangladesh. *Ophthalmology* 111, 1150–60 (2004).
54. He, M. Refractive Error and Visual Impairment in Urban Children in Southern China. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45, 793–799 (2004).
55. Robaei, D. *et al.* Visual Acuity and the Causes of Visual Loss in a Population-Based Sample of 6-Year-Old Australian Children. *Ophthalmology* 112, 1275–1282 (2005).
56. Banks, M. S. Infant refraction and accommodation. *Int. Ophthalmol. Clin.* 20, 205–32 (1980).
57. Atkinson J, B. O. Infant precursors of later visual disorders: correlation or causality? in *Univerity of Minnesota Press* 35–36 (1987).
58. A. Kuo, R.B. Sinatra, and S. P. D. Distribution of refractive error in healthy infants. *J. AAPOS* 7, 174–177 (2003).
59. Manuscript, A. & Study, D. Prevalence of myopia and hyperopia in 6- to 72-month-old african american and Hispanic children: the multi-ethnic pediatric eye disease study. *Ophthalmology* 117, 140–147.e3 (2010).
60. G. Wen, K. Tarczy-Hornoch, R. McKean-Cowdin, S. a Cotter, M. Borchert, J. Lin, J. Kim, and R. V. Prevalence of myopia, hyperopia, and astigmatism in non-Hispanic white and Asian children: multi-ethnic pediatric eye disease study. *Ophthalmology* 120, 2109–16

- (2013).
61. District, F. S. Refractive Error Study in Children: Results From Shunyi District, China. 427–435 (2000).
  62. He, M., Zheng, Y. & Xiang, F. Prevalence of myopia in urban and rural children in mainland China. *Optom. Vis. Sci.* 86, 40–4 (2009).
  63. Tang, W. C., Yap, M. K. H. & Yip, S. P. A review of current approaches to identifying human genes involved in myopia. *Clin. Exp. Optom.* 91, 4–22 (2008).
  64. Ingram, R. M. & Barr, a. Changes in refraction between the ages of 1 and 3 1/2 years. *Br. J. Ophthalmol.* 63, 339–42 (1979).
  65. Kleinstein, R. N. *et al.* Refractive error and ethnicity in children. *Arch. Ophthalmol.* 121, 1141–7 (2003).
  66. Laatikainen, L. & Erkkilä, H. Refractive errors and other ocular findings in school children. *Acta Ophthalmol.* 58, 129–36 (1980).
  67. Blum HL, Peters HB, B. J. Vision Screening for Elementary Schools: The Orinda Study. in *University of California Press* (1959).
  68. Hirsch, M. J. Predictability of refraction at age 14 on the basis of testing at age 6--interim report from the Ojai longitudinal study of refraction. *Am. J. Optom. Arch. Am. Acad. Optom.* 41, 567–73 (1964).
  69. Kempf GA, Collins SD, J. B. Refractive errors in eyes of children as determined by retinoscopic examination with cycloplegia. *Public Heal. Bull.* 182 (1928).
  70. Mohindra, I., Held, R., Gwiazda, J. & Brill, J. Astigmatism in infants. *Science* 202, 329–31 (1978).
  71. Gwiazda, J., Scheiman, M., Mohindra, I. & Held, R. Astigmatism in children: changes in axis and amount from birth to six years. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25, 88–92 (1984).
  72. Abrahamsson, M., Fabian, G. & Sjöstrand, J. Changes in astigmatism between the ages of 1 and 4 years: a longitudinal study. *Br. J. Ophthalmol.* 72, 145–9 (1988).
  73. Hirsch, M. J. Changes in astigmatism during the first eight years of school--an interim report from the Ojai longitudinal study. *Am. J. Optom. Arch. Am. Acad. Optom.* 40, 127–32 (1963).
  74. Zadnik K, Mutti DO, A. A. Astigmatism in children: What's the rule? *Ophthalmic Vis. Opt. Tech. Dig.* 3, 68–71 (1992).
  75. Dobson, V., Fulton, a B. & Sebris, S. L. Cycloplegic refractions of infants and young children: the axis of astigmatism. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25, 83–7 (1984).
  76. Howland, H. C. & Sayles, N. Photorefractive measurements of astigmatism in infants and young children. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25, 93–102 (1984).
  77. Gwiazda, J., Scheiman, M., Mohindra, I. & Held, R. Astigmatism in children: changes in axis and amount from birth to six years. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25, 88–92 (1984).
  78. Hirsch, M. J. The changes in refraction between the ages of 5 and 14; theoretical and practical considerations. *Am. J. Optom. Arch. Am. Acad. Optom.* 29, 445–59 (1952).
  79. Murthy, G. V. S., Gupta, S. K., Ellwein, L. B. & Mun, S. R. Refractive Error in Children in an Urban Population in New Delhi. (2001).
  80. Pokharel, G. P., Negrel, a D., Munoz, S. R. & Ellwein, L. B. Refractive Error Study in

- Children: results from Mechi Zone, Nepal. *Am. J. Ophthalmol.* 129, 436–44 (2000).
81. Kiefer, A. K. *et al.* Genome-Wide Analysis Points to Roles for Extracellular Matrix Remodeling, the Visual Cycle, and Neuronal Development in Myopia. *PLoS Genet.* 9, e1003299 (2013).
  82. Stambolian, D. *et al.* Meta-analysis of genome-wide association studies in five cohorts reveals common variants in RFX1, a regulator of tissue-specific splicing, associated with refractive error. *Hum. Mol. Genet.* (2013). doi:10.1093/hmg/ddt116
  83. Logan, N. S., Shah, P., Rudnicka, A. R., Gilmartin, B. & Owen, C. G. Childhood ethnic differences in ametropia and ocular biometry: the Aston Eye Study. *Ophthalmic Physiol. Opt.* 31, 550–8 (2011).
  84. Zadnik K, M. DO. Incidence and distribution of refractive anomalies. in *Borish's Clinical Refraction* (ed. WJ, B.) 35–36 (2006).
  85. Gregory L Skuta, Louis B. Cantor, J. S. W. Clinical optics. in *Basic and Clinical Science Course. American Academy of Ophthalmology*
  86. Abrams D, D.-E. S. *Practice of Refraction.* (1978).
  87. Zadnik k, M. DO. Biology of the eye as an optical system. in *Vol 1* (2003).
  88. S.A.; M. B. L. A clinical review of hyperopia in young children. *J. Am. Optom. Assoc.* 70, 215–224 (1999).
  89. Ingram, R. M., Walker, C., Wilson, J. M., Arnold, P. E. & Dally, S. Prediction of amblyopia and squint by means of refraction at age 1 year. *Br. J. Ophthalmol.* 70, 12–5 (1986).
  90. Ip, J. M. *et al.* Prevalence of hyperopia and associations with eye findings in 6- and 12-year-olds. *Ophthalmology* 115, 678–685.e1 (2008).
  91. Atkinson, J. *et al.* Normal emmetropization in infants with spectacle correction for hyperopia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 3726–31 (2000).
  92. O. Uretmen, K. Pamukçu, S. Kose, and S. E. Oculometric features of hyperopia in children with accommodative refractive esotropia. *Acta Ophthalmol. Scand* 81, 260–263 (2003).
  93. S.A. Cotter, R. Varma, K. Tarczy-Hornoch, R. McKean-Cowdin, J. Lin, G. Wen, J. Wei, M. Borchert, S.P. Azen, M. Torres, J.M. Tielsch, D.S. Friedman, M.X. Repka, J. Katz, J. Ibranke, and L. G. Risk factors associated with childhood strabismus: The multi-ethnic pediatric eye disease and baltimore pediatric eye disease studies. *Ophthalmology* 118, 2251–2261 (2011).
  94. K. Tarczy-Hornoch, R. Varma, S.A. Cotter, R. McKean-Cowdin, J.H. Lin, M.S. Borchert, M. Torres, G. Wen, S.P. Azen, J.M. Tielsch, D.S. Friedman, M.X. Repka, J. Katz, J. Ibranke, and L. G. Risk factors for decreased visual acuity in preschool children: The multi-ethnic pediatric eye disease and baltimore pediatric eye disease studies. *Ophthalmology* 118, 2262–2273 (2011).
  95. N, B. *Sobre Refracción Ocular.* (1989).
  96. Klein, A. P. *et al.* Support for polygenic influences on ocular refractive error. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46, 442–6 (2005).
  97. Verhoeven, V. J. M. *et al.* Large scale international replication and meta-analysis study confirms association of the 15q14 locus with myopia. The CREAM consortium. *Hum. Genet.* 131, 1467–80 (2012).
  98. Solouki, A. M. *et al.* A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for

- refractive errors and myopia at 15q14. *Nat. Genet.* 42, 897–901 (2010).
99. Hysi, P. G. *et al.* A genome-wide association study for myopia and refractive error identifies a susceptibility locus at 15q25. *Nat. Genet.* 42, 902–5 (2010).
  100. Schwartz, M., Haim, M. & Skarsholm, D. X-linked myopia: Bornholm eye disease. Linkage to DNA markers on the distal part of Xq. *Clin. Genet.* 38, 281–6 (1990).
  101. Klein, A. P. *et al.* Confirmation of linkage to ocular refraction on chromosome 22q and identification of a novel linkage region on 1q. *Arch. Ophthalmol.* 125, 80–5 (2007).
  102. Zhang, Q. *et al.* A new locus for autosomal dominant high myopia maps to 4q22-q27 between D4S1578 and D4S1612. *Mol. Vis.* 11, 554–60 (2005).
  103. Farbrother, J. E. *et al.* Linkage analysis of the genetic loci for high myopia on 18p, 12q, and 17q in 51 U.K. families. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45, 2879–85 (2004).
  104. Young, T. L. *et al.* X-linked high myopia associated with cone dysfunction. *Arch. Ophthalmol.* 122, 897–908 (2004).
  105. Ciner, E. *et al.* Genome-wide scan of African-American and white families for linkage to myopia. *Am. J. Ophthalmol.* 147, 512–517.e2 (2009).
  106. Kinge, B., Midelfart, a, Jacobsen, G. & Rystad, J. The influence of near-work on development of myopia among university students. A three-year longitudinal study among engineering students in Norway. *Acta Ophthalmol. Scand.* 78, 26–9 (2000).
  107. Goldschmidt, E. [On the etiology of myopia. An epidemiological study]. *Acta Ophthalmol. suppl* 98, Suppl 98:1+ (1968).
  108. J, A. The epidemiology of myopia. *Am J Epidemiol* 111, 220–8 (1980).
  109. Morgan, I. & Rose, K. How genetic is school myopia? *Prog. Retin. Eye Res.* 24, 1–38 (2005).
  110. Saw, S.-M. *et al.* IQ and the association with myopia in children. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45, 2943–8 (2004).
  111. Hewitt, A. W. *et al.* PAX6 mutations may be associated with high myopia. *Ophthalmic Genet.* 28, 179–82 (2007).
  112. Lopes, M. C. *et al.* Identification of a candidate gene for astigmatism. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2013). doi:10.1167/iops.12-10463
  113. Fledelius, H. C. Myopia prevalence in Scandinavia. A survey, with emphasis on factors of relevance for epidemiological refraction studies in general. *Acta Ophthalmol. Suppl. (Oxf. J.)* 185, 44–50 (1988).
  114. Teasdale, T. W. & Goldschmidt, E. Myopia and its relationship to education, intelligence and height. Preliminary results from an on-going study of Danish draftees. *Acta Ophthalmol. Suppl. (Oxf. J.)* 185, 41–3 (1988).
  115. Mutti, D. O., Mitchell, G. L., Moeschberger, M. L., Jones, L. A. & Zadnik, K. Children ' s Refractive Error. 43, (2002).
  116. Saw, S. *et al.* Nearwork in Early-Onset Myopia. 332–339 (2001).
  117. Saw, S. M. *et al.* Near-work activity and myopia in rural and urban schoolchildren in China. *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* 38, 149–55
  118. Nearwork and myopia in young children Violence in the USA For personal use only . Reproduce with permission from The Lancet Publishing Group . 357, 2001 (2001).
  119. Rosner, M. & Belkin, M. Intelligence, education, and myopia in males. *Arch. Ophthalmol.*

- 105, 1508–11 (1987).
120. Cohn, S. J., Cohn, C. M. & Jensen, A. R. Myopia and intelligence: a pleiotropic relationship? *Hum. Genet.* 80, 53–8 (1988).
  121. Rosner, J. Relation between tonic accommodation and visual perceptual skills development in 6- to 12-year-old children. *Optom. Vis. Sci.* 66, 526–9 (1989).
  122. Young, F. A. Reading, measures of intelligence and refractive errors. *Am. J. Optom. Arch. Am. Acad. Optom.* 40, 257–64 (1963).
  123. Rose, K. a *et al.* Myopia, lifestyle, and schooling in students of Chinese ethnicity in Singapore and Sydney. *Arch. Ophthalmol.* 126, 527–30 (2008).
  124. Dirani, M. *et al.* Outdoor activity and myopia in Singapore teenage children. *Br. J. Ophthalmol.* 93, 997–1000 (2009).
  125. Saw, S. M. *et al.* Academic achievement, close up work parameters, and myopia in Singapore military conscripts. *Br. J. Ophthalmol.* 85, 855–60 (2001).
  126. Sanfilippo, P. G., Hewitt, A. W., Hammond, C. J. & Mackey, D. a. The heritability of ocular traits. *Surv. Ophthalmol.* 55, 561–83 (2010).
  127. Neale MC, C. L. *Methodology for genetic studies of twins and families.* (1990).
  128. Wang, P. *et al.* Evaluation of MFRP as a candidate gene for high hyperopia. *Mol. Vis.* 15, 181–6 (2009).
  129. Borchert, M. S. *et al.* Risk factors for hyperopia and myopia in preschool children the multi-ethnic pediatric eye disease and Baltimore pediatric eye disease studies. *Ophthalmology* 118, 1966–73 (2011).
  130. O’Hara MA, N. L. Heredity of Refractive Errors. in / 1–11 (1992).
  131. Lyhne, N., Sjölie, A. K., Kyvik, K. O. & Green, A. The importance of genes and environment for ocular refraction and its determiners: a population based study among 20-45 year old twins. *Br. J. Ophthalmol.* 85, 1470–6 (2001).
  132. Segura Flores A, Gálvez-Gastélum FJ, Á.-R. A. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y sus aplicaciones terapéuticas. *Rev. Gastroenterol. Mex.* 69(4), 243–50
  133. Phaneuf, D., Chen, S. & Wilson, J. M. Intravenous Injection of an Adenovirus Encoding Hepatocyte Growth Factor Results in Liver Growth and Has a Protective Effect Against Apoptosis. 6, 96–103 (2000).
  134. Giordano, S. *et al.* Different point mutations in the met oncogene elicit distinct biological properties. 14, 399–406 (2017).
  135. Benvenuti S, C. P. The MET receptor tyrosine kinase in invasion and metastasis. *J Cell Physiol* 213, 316–25 (2007).
  136. Conway K, Price P, H. K. The molecular and clinical impact of hepatocyte growth factor, its receptor, activators, and inhibitors in wound healing. *Wound Repair Regen* 14, 2–10
  137. Li, Q. *et al.* Hepatocyte Growth Factor and Hepatocyte Growth Factor Receptor in the Lacrimal Gland , Tears , and Cornea. 37, (1996).
  138. Grierson I, Heathcote L, H. P. Hepatocyte growth factor/Scatter factor in the eye. *Prog. Retin. Eye Res.* 19, 779–802
  139. Han, W., Yap, M. K. H., Wang, J. & Yip, S. P. Family-based association analysis of hepatocyte growth factor (HGF) gene polymorphisms in high myopia. *Invest. Ophthalmol.*

- Vis. Sci.* 47, 2291–9 (2006).
140. Yanovitch, T. *et al.* Hepatocyte growth factor and myopia: genetic association analyses in a Caucasian population. *Mol. Vis.* 15, 1028–35 (2009).
  141. Schache, M., Chen, C. Y., Dirani, M. & Baird, P. N. The hepatocyte growth factor receptor (MET) gene is not associated with refractive error and ocular biometrics in a Caucasian population. *Mol. Vis.* 15, 2599–605 (2009).
  142. Khor, C. C. *et al.* cMET and refractive error progression in children. *Ophthalmology* 116, 1469–74, 1474.e1 (2009).
  143. Awadalla, M. S., Thapa, S. S., Burdon, K. P., Hewitt, A. W. & Craig, J. E. The association of hepatocyte growth factor (HGF) gene with primary angle closure glaucoma in the Nepalese population. *Mol. Vis.* 17, 2248–54 (2011).
  144. Jiang, Z. *et al.* Hepatocyte Growth Factor Genetic Variations and Primary Angle-Closure Glaucoma in the Han Chinese Population. 8, 8–12 (2013).
  145. You, J; Wen, L; Roufas, A. Expression of HGF and c-met proteins in human keratoconus corneas. *J. Ophthalmol.* 8 (2015).
  146. Fan, Qiao; Guo, X; Tideman, J. . Childhood gene-environment interactions and age-dependent effects of genetic variants associated with refractive error and myopia: the CREAM Consortium. *Sci. Rep.* 6, (2016).
  147. Tideman, J.W; Fan, Q. When do myopia genes have their effect? Comparison of genetic risks between children and adults. *Genet. Epidemiol.* 40, 756–766 (2016).
  148. Fledelius, Hans C; Christensen, A. S. F. Juvenile eye growth, when completed? An evaluation based on IOL-Master axial length data, cross-sectional and longitudinal. *Acta Ophthalmol.* 92, 259–264 (2013).
  149. Birney, E; Smith, G; Greally, J. Epigenome-wide association studies and the interpretation of disease-omics. *PLoS Genet.* 12, (2016).
  150. Xavier Sole, Elisabet Guino, Joan Valls, R. I. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 1928–1929 (2006).
  151. BT, W. & G. Linear mixed models: A practical guide to using statistical software.
  152. Ip JM, Robaei D, Kifley A, W. J. Prevalence of hyperopia and associations with eye findings in 6- and 12-year-olds. *Ophthalmology* 115 (4), 678–685
  153. Uretmen O, Pamukçu K, K. S. Oculometric features of hyperopia in children with accommodative refractive esotropia. *Acta Ophthalmol Scand* 81 (3), 260–3
  154. S.A. Cotter, R. Varma, K. Tarczy-Hornoch, R. McKean-Cowdin, J. Lin, G. Wen, J. Wei, M. Borchert, S.P. Azen, M. Torres, J.M. Tielsch, D.S. Friedman, M.X. Repka, J. Katz, J. Ibrionke, and L. G. Risk factors associated with childhood strabismus: The multi-ethnic pediatric eye disease and baltimore pediatric eye disease studies. *Ophthalmology* 118, 2251–2261 (2011).
  155. K. Tarczy-Hornoch, R. Varma, S.A. Cotter, R. McKean-Cowdin, J.H. Lin, M.S. Borchert, M. Torres, G. Wen, S.P. Azen, J.M. Tielsch, D.S. Friedman, M.X. Repka, J. Katz, J. Ibrionke, and L. G. Risk factors for decreased visual acuity in preschool children: The multi-ethnic pediatric eye disease and baltimore pediatric eye disease studies. *Ophthalmology* 118, 2262–2273 (2011).
  156. Burdon, K. P. *et al.* Association of Polymorphisms in the Hepatocyte Growth Factor Gene

- Promoter with Keratoconus. 8514–8519 (2011). doi:10.1167/iovs.11-8261
157. G, Zhou; W, I. Eye1 and Eye2: gene loci that modulate eye size, lens weight, and retinal area in the mouse. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 817–825 (1999).
  158. Morgan, Ian G; Rose, K, A. Is emmetropia the natural endpoint for human refractive development? An analysis of population-based data from the refractive error study in children (RESC). *Acta Ophthalmol.* 88, 877–884 (2010).
  159. Han, Siyu; Chen, P. Association of variants in FRAP1 and PDGFRA with corneal curvature in Asian populations from Singapore. *Hum. Mol. Genet.* 20, 3693–3698 (2011).
  160. Mishra, Aniket; Yazar, S. Genetic variants near PDGFRA are associated with corneal curvature in Australians. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53, 7131–7136 (2012).
  161. Candy, T. R. Which hyperopic patients are destined for trouble? *J. Am. Assoc. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* 16, 107–109 (2012).
  162. Kuo, J. Z; Zangwill, L. . Quantitative trait locus analysis of SIX1-SIX6 with retinal nerve fiber layer thickness in individuals of european descent. *Am. J. Ophthalmol.* 160, 123.e1-130.e1 (2015).
  163. Klein, A. P. *et al.* Heritability analysis of spherical equivalent, axial length, corneal curvature, and anterior chamber depth in the Beaver Dam Eye Study. *Arch. Ophthalmol.* 127, 649–55 (2009).
  164. Yazar, S; Forward, H; McKnight, C. . Raine eye health study: design, methodology and baseline prevalence of ophthalmic disease in a birth-cohort study of young adults. *Ophthalmic Genet.* 34, 199–208 (2013).
  165. Fan, Qiao; Teo, Y; Saw, S. Application of advanced statistics in ophthalmology. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52, 6059–6065 (2011).
  166. Guggenheim, J. a *et al.* A genome-wide association study for corneal curvature identifies the platelet-derived growth factor receptor alpha gene as a quantitative trait locus for eye size in white Europeans. *Mol. Vis.* 19, 243–53 (2013).
  167. Grierson I, Heathcote L, H. P. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog. Retin. Eye Res.* 19, 779–802 (2000).
  168. Sahebjada, S. *et al.* Association of the Hepatocyte Growth Factor Gene with Keratoconus in an Australian Population. 9, 1–6 (2014).
  169. Mishra, A. *et al.* Genetic variants near PDGFRA are associated with corneal curvature in Australians. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53, 7131–6 (2012).
  170. Fan, Qiao; X, Z. Genome-wide meta-analysis of five Asian cohorts identifies PDGFRA as a susceptibility locus for corneal astigmatism. *PLoS Genet.* 7 no 12, (2011).
  171. Sundin, O. H. *et al.* Developmental basis of nanophthalmos: MFRP Is required for both prenatal ocular growth and postnatal emmetropization. *Ophthalmic Genet.* 29, 1–9 (2008).
  172. Othman, M. I. *et al.* Autosomal dominant nanophthalmos (NNO1) with high hyperopia and angle-closure glaucoma maps to chromosome 11. *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1411–8 (1998).
  173. Sundin, O. H. *et al.* Extreme hyperopia is the result of null mutations in MFRP, which encodes a Frizzled-related protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 9553–8 (2005).
  174. Hornbeak, D. M. & Young, T. L. Myopia genetics: a review of current research and



- emerging trends. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 20, 356–62 (2009).
175. Jiang, Dan; Yang, Z. Evaluation of PRSS56 in Chinese subjects with high hyperopia or primary angle-closure glaucoma. *Mol. Vis.* 19, 2217–2226 (2013).
  176. Q. Li, R. Wojciechowski, C. L. S. Genome-wide meta-analysis of myopia and hyperopia provides evidence for replication of 11 loci. *PLoS One* 9, (2014).
  177. Wojciechowski, R. and Cheng, C. Involvement of multiple molecular pathways in the genetics of ocular refraction and myopia. *Retina* 38, 91–101 (2017).
  178. Guggenheim, J. A.; Zhou, X. Coordinated genetic scaling of the human eye: shared determination of axial eye length and corneal curvature. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 1715–1721 (2013).

## **APÉNDICE**

Barrio-Barrio J, Bonet-Farriol E, Galdós M, Noval S, Pueyo V, Breeze C, Santos JL, Alfonso-Bartolozzi B, Recalde S, Patiño-García A. HGF-rs12536657 and Ocular Biometric Parameters in Hyperopic Children, Emmetropic Adolescents, and Young Adults: A Multicenter Quantitative Trait Study. *Journal of Ophthalmology*, 2019, <http://doi.org/10.1155/2019/7454250>



























## 10.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO



### **HOJA DE INFORMACIÓN AL RESPONSABLE FAMILIAR**

**TÍTULO DEL PROYECTO:** ESTUDIO DE LOS FACTORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA HIPERMETROPÍA INFANTIL: ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN HGF (Hepatocyte Growth Factor).

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dr. Jesús Barrio Barrio

**CENTRO:** Clínica Universidad de Navarra

### **PROPÓSITO DEL ESTUDIO**

Usted, su hijo o su hija están invitados a participar en un estudio para analizar los factores genéticos implicados en el desarrollo de la hipermetropía. Con el presente estudio, se desea determinar si unos factores ligados a un gen concreto (llamado gen HGF), están vinculados con la predisposición a ser hipermetrope. Para ello compararemos un grupo de niños hipermétropes con un grupo de adultos sin hipermetropía.

### **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

La hipermetropía es un defecto de la visión que impide un correcto enfoque de los objetos en la retina. La hipermetropía es más frecuente en los niños. Además, en los niños son más frecuentes también las complicaciones oculares causadas por la hipermetropía: el estrabismo (desviación de los ojos) y el ojo vago. El ojo vago es la principal causa de discapacidad visual en niños.

Los defectos de la visión afectan también al desarrollo cognitivo ya que la mayoría de cosas que aprendemos las aprendemos visualmente. Por eso es importante estudiar los mecanismos que provocan estas enfermedades para poder detectarlas y tratarlas precozmente.

Hay unos factores hereditarios importantes implicados en el desarrollo de la miopía, de la hipermetropía y del estrabismo. El objetivo fundamental de este estudio es verificar, con la ayuda



de un análisis genético sencillo, si existen factores genéticos asociados al desarrollo de la hipermetropía.

Para hacer este estudio aprovecharemos una revisión ocular convencional en la que se realiza una dilatación de la pupila para ver el fondo de ojo y comprobar la graduación; por tanto no supone añadir ningún fármaco específico para la prueba.

La participación en este estudio no supone ningún coste económico adicional.

En el caso en que decida participar, mediremos la longitud de sus ojos con un aparato de gran precisión. La realización de estas mediciones es automática y no produce molestias: solo hay que mirar una luz dentro del aparato. Posteriormente, se le solicitará una muestra de raspado bucal con hisopo tal y como le informará el personal del Centro. Esta prueba es indolora y consiste en cepillar la parte interna del carrillo con un bastoncito de algodón. A partir de la muestra donada, se extraerá su ADN de modo que podremos estudiar las secuencias genéticas que podrían estar asociadas con el desarrollo de la hipermetropía.

Con este documento se le solicita su consentimiento para:

- 1) Estudiar en su muestra algunos genes y marcadores genéticos relacionados con la incidencia y desarrollo de la hipermetropía, como los polimorfismos del gen del factor de crecimiento hepatocitario (HGF). En este caso su muestra se destruirá después de completar la prueba.
- 2) Es probable que en un futuro se descubran más genes que puedan estar también involucrados en el desarrollo de la hipermetropía. Por ello, se le solicita que autorice al Investigador a almacenar su muestra codificada para futuros estudios. En este caso el Investigador garantiza que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN. Dichos productos podrán ser empleados posteriormente en otros proyectos de investigación del mismo equipo y en la misma institución, que estén relacionados con este tema y siempre que se respeten las condiciones de confidencialidad y anonimato del presente proyecto y hayan sido aprobados por el Comité de Ética de la Investigación.

## **RIESGOS Y BENEFICIOS QUE ENTRAÑA EL PRESENTE ESTUDIO**

La realización de estas pruebas no conlleva ningún riesgo para su salud ni para su visión. El raspado bucal no conlleva ningún riesgo para su salud ni presenta ningún efecto secundario.

La información generada a partir de los estudios realizados sobre su muestra podría ser en un futuro fuente de beneficios para la salud de la población, especialmente los niños, aunque no de forma individual en el donante.

## **CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Tiene derecho a solicitar en cualquier momento, y sin necesidad de especificar el motivo, la eliminación total de las muestras donadas y de la información relacionada con las mismas que en ese momento estén almacenadas.

Las muestras biológicas y el cuestionario serán enviados con un código numérico, que no le identifique directamente, al Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Universidad de Navarra, donde serán custodiadas. De esa manera se asegura la confidencialidad de sus datos. Su identidad no será revelada a persona alguna.

Se le garantiza la absoluta confidencialidad de los datos genéticos obtenidos del estudio y dichos resultados estarán a su disposición si así lo requiere.

## **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA**

Debe saber que la participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento. Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Gracias por su colaboración.



### CONSENTIMIENTO INFORMADO

D/Dña. \_\_\_\_\_ con DNI  
\_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ años de edad, representante legal de  
D/Dña. \_\_\_\_\_ con domicilio en  
\_\_\_\_\_ provincia  
de \_\_\_\_\_ manifiesto que he sido informado/a por  
\_\_\_\_\_ sobre los detalles del presente proyecto de investigación  
que lleva por título “ESTUDIO DE LOS FACTORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA  
HIPERMETROPÍA INFANTIL: ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN HGF (Hepatocyte  
Growth Factor).”

Estoy de acuerdo en que los datos personales relativos a este estudio sean almacenados,  
procesados electrónicamente y transmitidos, con propósitos de análisis de los datos derivados  
de este estudio.

He sido informado sobre el procesamiento de las muestras obtenidas, su almacenamiento, y  
sobre el fin para el que se utilizarán las muestras y datos personales.

Así mismo autorizo al investigador a que revele la información necesaria recogida en el estudio  
para que pueda ser procesada y difundida a la comunidad científica, sin que en ningún momento  
sea revelada la identidad del sujeto de estudio.

Entiendo que la participación en este estudio es voluntaria y que en cualquier momento puedo  
revocar este consentimiento y solicitar la eliminación de los datos personales y muestras que  
permanezcan archivadas.

Declaro que todas mis dudas y preguntas han sido aclaradas, que he comprendido toda la  
información que se me ha proporcionado. Por ello doy mi consentimiento para participar en el  
estudio.

Autorizo al Investigador a almacenar la muestra codificada: Sí No (señale lo que proceda)

En \_\_\_\_\_, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Firma del paciente      Firma del representante legal      Firma del investigador