

## POLIMORFISME GEN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR -2578C/A (RS699947) SEBAGAI FAKTOR RISIKO TERJADINYA RETINOPATI DIABETIKA PADA DIABETES MELITUS

Audrey Rachel Wijaya<sup>1</sup>, I Wayan Surudarma<sup>2</sup>, Desak Made Wihandani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

<sup>2</sup> Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

e-mail: audrey.rachel@student.unud.ac.id

### ABSTRAK

Retinopati Diabetika (RD) merupakan salah satu komplikasi dari diabetes melitus (DM) yang terjadi akibat kerusakan mikrovaskular pada retina karena paparan perubahan metabolik yang berkepanjangan akibat diabetes. Insiden RD meningkat secara bertahap di seluruh dunia termasuk di Indonesia. Beberapa studi menyatakan adanya peran genetik yang dapat berpengaruh sebagai faktor risiko dari kejadian RD pada pasien DM. Literatur ini dibuat dengan melakukan pencarian jurnal dengan kata kunci “VEGF 2578 polymorphism”, “diabetic retinopathy”, dan “snp rs699947”. Dari berbagai jurnal yang ditinjau, 40 ditemukan cocok sebagai referensi untuk literatur ini. Faktor genetik khususnya gen VEGF memiliki peran dalam perjalanan penyakit RD. Adanya aktivasi dan peningkatan ekspresi VEGF melemahkan blood retinal barrier (BRB) dengan meningkatkan permeabilitas vascular dan menginduksi kemunculan neovaskularisasi. Induksi adhesi leukosit tepat pada sel endotel di retina dapat terjadi karena adanya ekspresi VEGF, hal ini dapat menyebabkan munculnya kerusakan pada sel endotel tersebut, dan dapat terjadi kerusakan retina, kebocoran darah pada vitreous, serta penurunan visus pada pasien. Polimorfisme gen VEGF -2578C/A telah diteliti di berbagai negara untuk mencari hubungannya sebagai faktor risiko terhadap kejadian RD pada pasien DM. Namun hasil penelitian yang telah dilakukan masih bervariasi. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor perbedaan etnis dan jumlah sampel yang digunakan. Penelitian lebih lanjut masih dibutuhkan sehingga hal ini dapat digunakan sebagai referensi dalam penanganan tahap awal pasien RD dan mencegah kebutaan.

**Kata kunci :** Retinopati Diabetika., Diabetes Melitus., Polimorfisme VEGF., SNP rs699947

### ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is one of complication in diabetes mellitus (DM) which caused by microvascular damage in retina due to a long term metabolic changes in diabetes. Incidence of DR is increasing gradually across the globe including in Indonesia. Several studies determined there is an indication that essential role of genetic factors may contribute in the development of DR. This article is done by searching journals with keywords “VEGF 2578 polymorphism”, “diabetic retinopathy”, and “snp rs699947” on the search engines. From several journals that were reviewed, 40 were found suitable as a reference for this paper. Genetic factors especially VEGF genes were involved in DR pathophysiology. VEGF activation leads to a breakdown of the blood retinal barrier and can also induce neovascularization in proliferative diabetic retinopathy. Excessive VEGF expression induce leukocyte adhesion in retinal endothelial cell, leads to retinal vascular leakage, resulting in visual impairment. Several other studies that have been carried out in various populations of countries to find the association between the VEGF-2578 gene (rs699947) and DR had various results. These varying results can be caused by ethnic differences factors and also number of study population. Further studies need to be conducted to provide more information about the association, thus it can be used as a management in handling early stage of DR patient to prevent blindness.

**Keywords :** Diabetic Retinopathy., Diabetes Mellitus., VEGF Polymorphism., SNP rs699947

## PENDAHULUAN

Era globalisasi membawa banyak perubahan termasuk pola hidup dan pola makan yang instan, dimana secara tidak langsung mendukung munculnya penyakit-penyakit pada manusia, salah satunya yaitu diabetes melitus (DM). Hal ini disebabkan oleh aktivitas fisik manusia yang berkurang karena peran dari kemajuan teknologi tersebut.<sup>1</sup> Insiden diabetes melitus, khususnya diabetes melitus tipe 2 (DMT2) terus melonjak baik di negara maju maupun negara berkembang termasuk Indonesia, dimana pada tahun 2000 kasus DM ditemukan sebanyak 8,4 juta kasus dan pada tahun 2015, WHO memperkirakan akan adanya peningkatan secara konsisten hingga tahun 2030 sejumlah 21,3 juta kasus.<sup>2</sup> DM adalah sebuah gangguan metabolik dengan terjadinya peningkatan kadar gula dalam darah yang dapat disebabkan oleh terjadinya resistensi dari insulin serta kegagalan sel beta pankreas. Kedua hal ini mempengaruhi terjadinya hiperglikemia yang berpotensi menimbulkan komplikasi makrovaskular maupun mikrovaskular. Salah satu komplikasi mikrovaskular yang dapat terjadi adalah retinopati diabetika.<sup>3</sup> Retinopati diabetika (RD) adalah salah satu dari penyebab utama gangguan penglihatan pada pasien yang masih dalam usia produktif. RD memiliki prevalensi 22-37% pada individu dengan diabetes, dimana terjadi kerusakan mikrovaskular pada retina karena paparan perubahan metabolik yang berkepanjangan akibat diabetes. Jika hal ini tidak ditangani secara dini dengan tepat dan baik dapat menyebabkan kebutaan.<sup>4,5</sup> Namun, komplikasi RD dapat terjadi pada fase awal dari diabetes pada pasien dengan kadar gula darah yang terkontrol, sementara pasien lain dengan diabetes yang sudah bertahun-tahun, tidak memiliki komplikasi RD. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya RD bukan hanya karena faktor hiperglikemia. Beberapa penelitian telah menunjukkan adanya peran genetik dalam RD.<sup>6-8</sup>

Salah satu gen yang memiliki peran dalam proses patogenesis RD adalah vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF adalah suatu faktor angiogenesis dan growth factor yang erat kaitannya dengan permeabilitas vaskular pada sel endotel. Aktivasi dari VEGF ini dikaitkan dengan adanya perubahan mikrovaskular yang terinduksi pada kondisi hipoksemia saat terjadinya DM ataupun kondisi hiperglikemi.<sup>9</sup> Adanya aktivasi VEGF ini merujuk pada rusaknya blood retinal barrier (BRB) dan juga dapat menginduksi munculnya neovaskularisasi pada retinopati diabetik jenis proliferatif.<sup>10</sup> Beberapa studi menyatakan bahwa adanya single nucleotide polymorphism (SNP) -2578 pada regio promoter VEGF yang dapat berpengaruh terhadap perkembangan diabetes retinopati.<sup>7,8,11</sup> Kajian pustaka ini akan membahas mengenai hubungan polimorfisme gen VEGF -2578C/A sebagai faktor risiko dari RD pada pasien DM.

## METODE

Literatur ini dituliskan dalam bentuk tinjauan pustaka. Sumber literatur terdiri dari jurnal-jurnal yang dianggap berkaitan dan sesuai dengan topik pembahasan dari berbagai sumber termasuk PubMed, Google Scholar, dan Nature. Kata kunci yang digunakan adalah “VEGF 2578 polymorphism”, “diabetic retinopathy”, dan “snp rs699947”. Kriteria inklusi adalah semua studi polimorfisme gen VEGF -2578 terhadap RD. Penulis mengeksklusi literatur yang diterbitkan lebih dari 10 tahun

terakhir dan literatur selain bahasa Inggris dan Indonesia. Dari artikel-artikel yang ditemukan, 40 artikel ditemukan relevan untuk digunakan dalam penulisan tinjauan pustaka ini. Informasi yang ada dicatat lalu dikumpulkan dan disesuaikan dengan topik yang sudah dipersiapkan. Artikel-artikel tersebut ditafsirkan dan disusun menjadi satu kajian literatur ilmiah.

## DIABETES

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik yang dikarakteristikan dengan tingginya kadar gula darah karena adanya gangguan pada sekresi insulin, kinerja insulin, ataupun kombinasi dari keduanya.<sup>3</sup> Dilansir dari American Diabetes Association (ADA), klasifikasi dari diabetes melitus dapat dibagi menjadi empat kategori umum yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes melitus gestasional, dan diabetes melitus karena penyebab lain.<sup>12</sup> Berdasarkan keempat kategori tersebut, DM tipe 2 merupakan kasus yang paling sering ditemukan yaitu sekitar 90% - 95% dari semua penderita diabetes melitus.<sup>13</sup>

Pada 2014, WHO memperkirakan bahwa terdapat peningkatan penderita DM sebanyak 4 kali lipat dari 108 juta orang dewasa yang menderita diabetes pada tahun 1980 menjadi 422 juta orang dewasa. Penderita diabetes memiliki peningkatan yang cepat di negara dengan pendapatan rendah sampai dengan sedang dibandingkan dengan negara yang memiliki pendapatan tinggi. Data yang didapatkan dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) oleh Departemen Kesehatan, menjabarkan adanya penambahan secara signifikan pada angka prevalensi diabetes pada rentang 5 tahun dari 2013 menuju tahun 2018, yakni dari 6,9% menjadi 8,5%, didasarkan dari data tersebut, dapat diestimasikan bahwa penderita diabetes di Indonesia mencapai angka lebih dari 16 juta orang. Data-data ini menunjukkan bahwa angka penyandang DM di Indonesia sangat tinggi.<sup>14</sup> Diagnosis DM dapat ditegakkan berdasarkan kriteria diagnosis DM dengan pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan bahan plasma darah vena, sedangkan untuk pemantauan pengobatan bisa menggunakan darah kapiler.<sup>3</sup>

Penelitian di Indonesia meliputi epidemiologi diabetes melitus yang dikerjakan menunjukkan adanya peningkatan insiden diabetes melitus yang secara linear diikuti dengan meningkatnya kemungkinan penderita mengidap komplikasi dari diabetes melitus kronik. Dari sejumlah penelitian yang ada dan dilakukan secara prospektif, menunjukkan bahwa adanya peningkatan dari berbagai komplikasi akibat dari komplikasi diabetes melitus kronik antara lain, sumbatan pada pembuluh darah, meliputi mikrovaskular seperti neuropati, retinopati, nefropati, ataupun makrovaskular seperti penyakit jantung koroner, stroke dan sumbatan vena pada ekstremitas bagian bawah. Retinopati diabetika merupakan salah satu penyebab dari kebutaan yang cukup sering terjadi pada pasien dengan kasus diabetes mellitus yang sudah lama atau kronis.<sup>15</sup>

## RETINOPATI DIABETIKA

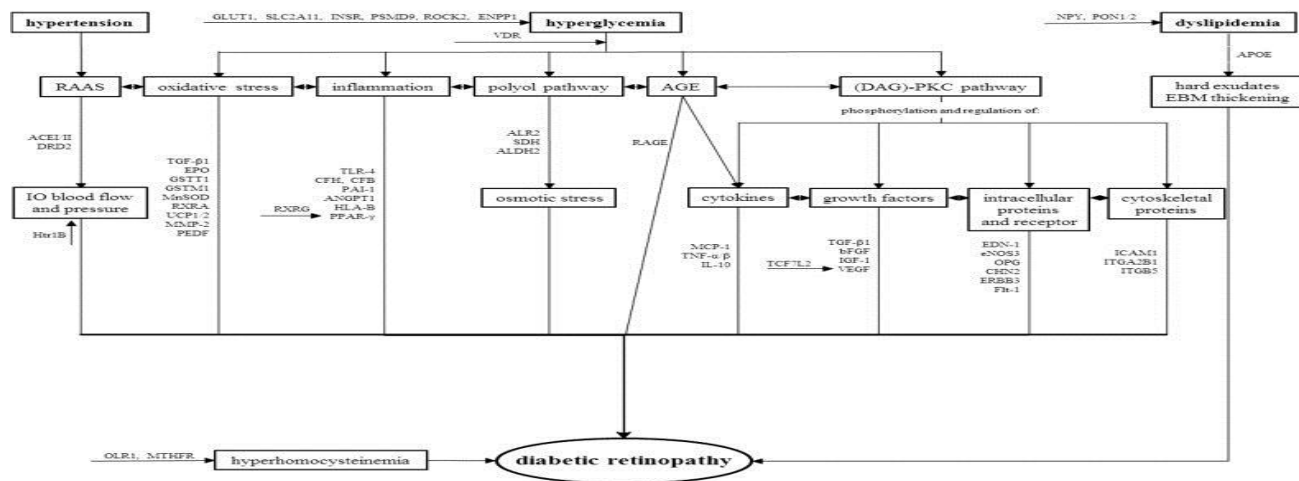
Retinopati diabetika merupakan suatu penyakit kronik yang berjalan secara progresif dan berisiko mengancam penglihatan dengan kondisi hiperglikemia yang berkelanjutan disertai dengan

kondisi metabolik lainnya seperti hipertensi. Retinopati diabetika ini merupakan kondisi yang paling sering ditemukan sebagai faktor pencetus kebutaan pada pasien dengan rentang usia 20 sampai dengan 74 tahun.<sup>16</sup> Pada 2015, RD diperkirakan sebagai penyebab kebutaan ketujuh terbanyak di dunia.<sup>17</sup> Di Indonesia, studi di Bali pada tahun 2014-2015 di RSUP Sanglah menunjukkan hasil data yaitu dari 123 pasien DM yang diteliti, terdapat 60,16% pasien yang menderita diabetika retinopati atau sejumlah 74 pasien.<sup>18</sup> Berdasarkan International Clinical Disease Severity Scale for Diabetic Retinopathy, diabetik retinopati diklasifikasikan menjadi lima, yaitu: *no apparent retinopathy*, *mild nonproliferative diabetic retinopathy*, *moderate nonproliferative diabetic retinopathy*, *severe nonproliferative diabetic retinopathy*, *proliferative diabetic retinopathy*.<sup>19</sup>

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses munculnya retinopati diabetika dapat dibedakan menjadi dua yaitu faktor internal dan eksternal, dimana faktor internal tidak dapat dimodifikasi dan faktor eksternal adalah faktor yang dapat dimodifikasi. Adapun faktor internal yang dapat berpengaruh

diantaranya durasi menderita diabetes, usia, dan genetik.<sup>6,20-22</sup> Beberapa faktor eksternal yang dapat berpengaruh yaitu hipertensi, dislipidemia, dan hiperglikemia.<sup>20,23,24</sup>

Terdapat beberapa jalur yang dapat dilewati dalam perkembangan retinopati diabetika diantaranya adalah peningkatan jalur poliol, aktivasi protein kinase C, peningkatan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *insulin like growth factor-1* (IGF-1), percepatan formasi *advanced glycation endproducts* (AGEs), stres oksidatif, dan leukostasis.<sup>25</sup> Kerusakan sel endotel vaskular atau hipoksia jaringan pada pasien diabetes dapat diinduksi oleh ekspresi VEGF. VEGF juga dapat berfungsi untuk menginduksi angiogenesis, melemahkan *blood-retinal barrier* dengan peningkatan permeabilitas vaskular, stimulasi pertumbuhan sel endotel, dan akhirnya terjadi neovaskularisasi. Ekspresi VEGF menginduksi adhesi leukosit pada sel endotel retina, selain itu juga dapat merusak sel endotel tersebut, yang pada akhirnya menimbulkan kerusakan pada retina, perdarahan pada vitreous, dan penurunan visus pasien.<sup>26</sup>



**FAKTOR GENETIK DALAM RETINOPATI DIABETIKA**

Salah satu faktor risiko yang dapat mempengaruhi terjadinya RD adalah faktor genetik. Hal ini ditunjukkan dengan adanya beberapa kasus RD yang didapat saat pasien memiliki nilai gula darah yang baik/terkontrol dan durasi DM yang singkat dibandingkan dengan pasien yang memiliki nilai gula darah yang tidak terkontrol dan sudah memiliki DM sejak lama namun belum mendapatkan komplikasi RD. Probabilitas dalam perkembangan RD juga dipengaruhi oleh etnis yang berbeda, dengan orang Afrika dan Asia lebih rentan dalam terjangkit RD.<sup>9</sup> Selain itu, ditemukan juga risiko tiga kali lebih besar pada pasien dengan DM yang memiliki riwayat keluarga dengan RD dibandingkan dengan yang tidak.<sup>27</sup> Oleh karena itu, ada sebuah bukti bahwa adanya tambahan faktor independen yaitu predisposisi genetik yang dapat berperan dalam perkembangan dan progresivitas dari RD.

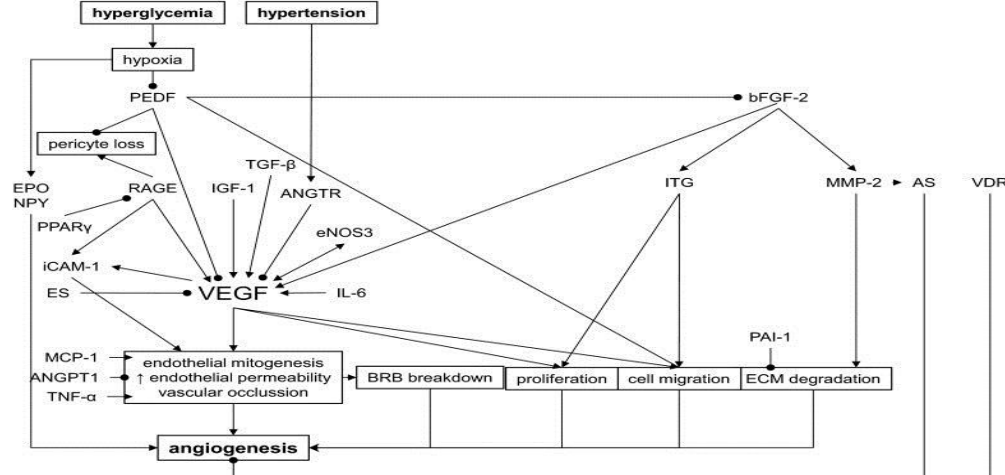
Dengan demikian, untuk mengetahui keterlibatan gen dalam mekanisme terjadinya RD, terdapat beberapa kandidat gen yang berada di jalur patofisiologi RD (Gambar 1) seperti jalur aldose reduktase, sistem renin-angiotensin, transportasi glukosa, jalur poliol, glikasi non enzimatis, disfungsi endotel, vascular tone maintenance dan extracellular matrix remodelling. Beberapa gen yang masuk terdalam gen kandidat yaitu: aldose reduktase (AR2), *angiotensin I converting enzyme* (ACE), *angiotensin II type I receptor* (AGTR1), *advanced glycation end products* (RAGE), *glucose transporter 1* (GLUT1), *angiotensinogen* (AGT), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *endothelin isoforms & its cellular receptors and transforming growth factor beta* (TGFbeta), *inducible and constitutive nitric oxide synthases* (NOS2A, NOS3).<sup>5,6,28</sup>

**VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)**

Vascular Endothelial Growth Factor merupakan salah satu faktor angiogenik yang memiliki struktur serupa dengan *platelet*

derived growth factor (PDGF). VEGF merupakan salah satu sinyal kimia yang dapat merangsang pertumbuhan pembuluh darah yang baru. VEGF sendiri terdiri dari 6 jenis, antara lain: VEGF-A atau VEGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-F, PlGF. VEGF-A merupakan penemuan terakhir dimana sebelumnya hanya disebut VEGF. Ada beberapa protein sinyal

VEGF yang terkait pengkodean oleh virus (VEGF-E) dan racun beberapa ular (VEGF-F). Aktivitas dari VEGF sendiri bekerja pada sel endotel di vaskular. Pada in vitro, VEGF dapat terbukti merangsang sel endotel untuk mitogenesis dan migrasi sel. VEGF juga dapat meningkatkan permeabilitas dan merupakan mikrovaskular vasodilator.<sup>29</sup>



**Gambar 2.** Gen yang menyimpan DNA polimorfisme terlibat dalam angiogenesis pada retinopati diabetika.<sup>4</sup>

Eksresi dari VEGF dapat dipengaruhi oleh kondisi hiperglikemia dan terjadinya hipoksia sehingga menginduksi interaksi antara growth factor, sitokin, cell signalling molecules, dan extracellular matrix yang berperan dalam proses angiogenesis yang ditunjukkan pada Gambar 2. Gen yang mengkode VEGF berukuran 14 kb yang terletak pada kromosom 6 dan mempunyai 8 exon dan 7 intron.<sup>6</sup>

### VEGF ANGIOGENESIS DALAM RETINOPATI DIABETIKA

VEGF bekerja dengan meningkatkan fosforilasi protein seperti zonula occludens yang adalah protein dari tight junctions. Pada kondisi retinopati diabetika, biasanya didapatkan adanya kadar serum dari VEGF yang tinggi dimana hal ini berhubungan dengan pemberian anti-VEGF sebagai sebuah tatalaksana yang dapat memperbaiki kondisi proliferasi pembuluh darah pada retina pasien.<sup>30</sup>

Aktivasi dari VEGF ini diinduksi adanya perubahan mikrovaskular yang pada kondisi hipoksemia saat terjadinya DM ataupun kondisi hiperglikemi.<sup>9</sup> Dengan adanya aktivasi dan peningkatan ekspresi VEGF, hal ini melemahkan *blood retinal barrier* (BRB) dengan meningkatkan permeabilitas vaskular, dan dapat juga menginduksi kemunculan neovaskularisasi.<sup>31</sup> Ekspresi VEGF dapat membentuk adanya penempelan leukosit pada endotel retina, menimbulkan kerusakan sel endotel, dan mencetus kerusakan pada retina, perdarahan vitreous, disertai dengan penurunan visus dari pasien.<sup>26</sup>

### POLIMORFISME VEGF DAN RETINOPATI DIABETIKA

Polimorfisme -2578C/A gen VEGF merupakan salah satu polimorfisme yang terjadi di daerah promotor 5'untranslated region (UTR). Promoter terletak di daerah upstream dari gen yang diregulasi dan merupakan tempat terikatnya aktivator atau faktor transkripsi. Beberapa sisi yang mengikat faktor transkripsi ditemukan di dalam 5'UTR dan polimorfisme pada daerah ini menyebabkan terjadinya perbedaan ekspresi VEGF. Berdasarkan database dari *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) terdapat 3 referensi variasi alel pada rs699947 yaitu A/C/T dengan alel A sebagai ancestral alel.<sup>32</sup> Disamping itu, terdapat 2 *transcription factor binding site* (TFBS) untuk SNP alel A dan 3 TFBS untuk alel C. Polimorfisme alel C memfasilitasi terjadinya ikatan dengan *hypoxia-inducible factor 1 alpha* (HIF1α): ARNT (=H1F), dimana alel A mengeliminasi binding site tersebut.<sup>33</sup>

Beberapa penelitian mengatakan adanya single nucleotide polymorphism (SNP) pada bagian ini dengan variasi C/A pada posisi nukleotida -2578 (rs699947) berhubungan dengan angiogenesis pada perjalanan penyakit mata karena diabetes. Adanya variasi alel pada regio rs699947 dapat menyebabkan terjadinya perbedaan ekspresi gen VEGF. Hal ini dapat merujuk pada adanya perbedaan klinis antara satu pasien dengan yang lain. Berdasarkan beberapa studi yang telah dilakukan, terdapat variasi hubungan yang signifikan maupun yang tidak signifikan mengenai SNP VEGF pada posisi nukleotida -2578 (rs699947) dengan variasi alel C dan A yang berhubungan sebagai faktor risiko RD di berbagai populasi.<sup>7,8,11</sup> Sebuah studi meta-analisis dari delapan studi pada 2,402 pasien di Asia dan Eropa, serta studi 500 pasien di Cina, dilaporkan adanya hubungan yang signifikan antara polimorfisme rs699947 -2578C/A dan RD pada pasien T2DM.<sup>34,35</sup> Studi meta-analisis lain dengan 1,702 pasien Asia dan Kaukasia dari enam penelitian, hubungan polimorfisme rs699947 (-2578C/A) dan RD didapatkan signifikan pada etnis Asia namun tidak pada etnis Kaukasia.<sup>36</sup> Namun, pada meta-analisis dari 2,208

pasien Asia dan Kaukasia dalam enam penelitian, studi pada 126 pasien etnis Mesir, dan gabungan penelitian 1,040 pasien etnis Cina, ditemukan adanya hubungan yang tidak signifikan dari hubungan polimorfisme rs699947 -2578C/A dengan RD pada pasien T2DM.<sup>37-40</sup>

## SIMPULAN

Penelitian hubungan polimorfisme gen VEGF -2578C/A (rs699957) sebagai faktor risiko RD telah dilakukan di berbagai negara, namun masih memiliki hasil yang bervariasi. Adanya variasi ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti perbedaan etnis dan jumlah sampel yang digunakan. Sebagian besar hasil penelitian memiliki hasil yang signifikan akan adanya hubungan antara polimorfisme VEGF -2578C/A (rs699947) sebagai faktor risiko dari terjadinya RD pada pasien diabetes melitus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Kolb H, Martin S. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes [Internet]. Vol. 15, BMC Medicine. BioMed Central Ltd.; 2017 [cited 2020 Sep 21]. p. 1–11. Available from: <https://bmcmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-017-0901-x>
- (No Title) [Internet]. [cited 2020 Sep 21]. Available from: [https://www.who.int/nmh/publications/fact\\_sheet\\_diabetes\\_en.pdf](https://www.who.int/nmh/publications/fact_sheet_diabetes_en.pdf)
- Soelistijo S, Novida H, Rudijanto A, Soewondo P, Suastika K, Manaf A, et al. Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe2 Di Indonesia 2015 [Internet]. Perkeni. 2015. 82 p. Available from: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2019/01/4.-Konsensus-Pengelolaan-dan-Pencegahan-Diabetes-melitus-tipe-2-di-Indonesia-PERKENI-2015.pdf&ved=2ahUKEwjy8KOs8cfoAhXCb30KHQb1Ck0QFjADegQIBhAB&usg=AOv>
- Priščáková P, Minárik G, Repiská V. Candidate gene studies of diabetic retinopathy in human [Internet]. Vol. 43, Molecular Biology Reports. Springer Netherlands; 2016 [cited 2020 Sep 21]. p. 1327–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27730450/>
- Wihandani DM, Suastika K, Agus Bagiada IN, Malik SG. Polymorphisms of Aldose Reductase (ALR2) Regulatory Gene are Risk Factors for Diabetic Retinopathy in Type-2 Diabetes Mellitus Patients in Bali, Indonesia. Open Ophthalmol J [Internet]. 2018 Oct 18 [cited 2020 Oct 24];12(1):281–8. Available from: [/pmc/articles/PMC6198411/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC6198411/?report=abstract)
- Khan SZ, Ajmal N, Shaikh R. Diabetic Retinopathy and Vascular Endothelial Growth Factor Gene Insertion/Deletion Polymorphism [Internet]. Vol. 44, Canadian Journal of Diabetes. Elsevier B.V.; 2020 [cited 2020 Oct 24]. p. 287–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31859041/>
- Shahin RMH, Abdelhakim MASE, Owid MESM, El-Nady M. A Study of VEGF Gene Polymorphism in Egyptian Patients with Diabetic Retinopathy. Ophthalmic Genet [Internet]. 2015 Dec 9 [cited 2020 Sep 21];36(4):315–20. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13816810.2014.881508>
- Nakamura S, Iwasaki N, Funatsu H, Kitano S, Iwamoto Y. Impact of variants in the VEGF gene on progression of proliferative diabetic retinopathy. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol [Internet]. 2009 Jan 16 [cited 2020 Sep 21];247(1):21–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00417-008-0915-3>
- Simó-Servat O, Hernández C, Simó R. Genetics in Diabetic Retinopathy: Current Concepts and New Insights. Curr Genomics [Internet]. 2013 Aug 1 [cited 2020 Sep 21];14(5):289–99. Available from: [/pmc/articles/PMC3763680/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3763680/?report=abstract)
- Sydorova M, Lee MS. Vascular endothelial growth factor levels in vitreous and serum of patients with either proliferative diabetic retinopathy or proliferative vitreoretinopathy. Ophthalmic Res [Internet]. 2005 Jul [cited 2020 Sep 21];37(4):188–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15990461/>
- Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. Diabetes [Internet]. 2009 Sep [cited 2020 Sep 21];58(9):2137–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19587357/>
- Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes2019. Diabetes Care [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2020 Oct 30];42(Supplement 1):S13–28. Available from: <https://doi.org/10.2337/dc19-S002>
- Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention [Internet]. Vol. 11, International journal of medical sciences. Ivyspring International Publisher; 2014 [cited 2020 Sep 21]. p. 1185–200. Available from: [/pmc/articles/PMC4166864/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC4166864/?report=abstract)
- KEMENKES RI. Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018. Pus Data dan Inf Kementrian Kesehat RI. 2019;1–8.
- Waspadji S. Komplikasi kronik diabetes: mekanisme terjadinya, diagnosis, dan strategi

- pengelolaan. In: W. Sudoyo, B. Setiyohadi, I. Alwi, M. Simadibrata K & SS, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 5th ed. Jakarta: Internal Publisher; 2014. p. 2359–66.
16. The Royal Collage of Ophthalmologist. 2013-SCI-301-FINAL-DR-GUIDELINES-DEC-2012-updated-July-2013.pdf. 2012;2012(December 2012):1–147.
  17. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli M V., et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2020 Oct 23];5(12):e1221–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032195/>
  18. Suryathi, Ni Made Ari; Budhiastra, I Putu; Jayanegara, I Wayan Gede; Widiana IGR. KEJADIAN RETINOPATI DIABETIK PADA PASIEN DIABETES MELLITUS | *Medicina. Medicina (B Aires)* [Internet]. 2015 [cited 2020 Sep 21];46(2). Available from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/medicina/article/view/18086>
  19. Wu L. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes* [Internet]. 2013 [cited 2020 Sep 21];4(6):290. Available from: <http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v4/i6/290.htm>
  20. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* [Internet]. 2012 Mar [cited 2020 Sep 21];35(3):556–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22301125/>
  21. He B Bin, Wei L, Gu YJ, Han JF, Li M, Liu YX, et al. Factors associated with diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol* [Internet]. 2012 Jul 10 [cited 2020 Sep 21];2012:157940–157940. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC22844279/?tool=EBI>
  22. Pokharel SM, Badhu BP, Sharma S, Maskey R. Prevalence of and risk factors for diabetic retinopathy among the patients with diabetes mellitus in Dharan municipality, Nepal. *J Coll Med Sci* [Internet]. 2015 Sep 18 [cited 2020 Sep 21];11(1):17–21. Available from: <http://dx.doi.org>
  23. Lee R, Wong TY, Sabanayagam C. Epidemiology of diabetic retinopathy, diabetic macular edema and related vision loss. *Eye Vis* [Internet]. 2015 Dec [cited 2020 Sep 21];2(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26605370/>
  24. World Health Organization. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus Abbreviated Report of a WHO Consultation. 2011.
  25. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy. *ISRN Ophthalmol* [Internet]. 2013 [cited 2020 Sep 21];2013:1–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24563789/>
  26. Zong H, Ward M, Stitt AW. AGEs, RAGE, and diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2011 Aug [cited 2020 Sep 21];11(4):244–52. Available from: <https://pure.qub.ac.uk/en/publications/ages-rage-and-diabetic-retinopathy>
  27. Kuo JZ, Wong TY, Rotter JI, Wiggs JL. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2020 Sep 21];132(1):96–107. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24201651/>
  28. Ng DPK. Human Genetics of Diabetic Retinopathy: Current Perspectives. *J Ophthalmol* [Internet]. 2010 [cited 2020 Nov 2];2010:1–6. Available from: </pmc/articles/PMC2913807/?report=abstract>
  29. Obianime A, Uche F. The Phytochemical screening and the effects of methanolic extract of *Phyllanthus amarus* leaf on the Biochemical parameters of Male guinea pigs. *J Appl Sci Environ Manag.* 2010 Jun 7;12(4).
  30. Stewart MW. Aflibercept (VEGF trap-eye): The newest anti-VEGF drug [Internet]. Vol. 96, *British Journal of Ophthalmology*. BMJ Publishing Group; 2012 [cited 2020 Sep 21]. p. 1157–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432488/>
  31. Ved N, Hulse RP, Bestall SM, Donaldson LF, Bainbridge JW, Bates DO. Vascular endothelial growth factor-A165b ameliorates outer-retinal barrier and vascular dysfunction in the diabetic retina. *Clin Sci* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2020 Nov 2];131(12):1225–43. Available from: </pmc/articles/PMC5450016/?report=abstract>
  32. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information NL of M. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs699947 \*\* With Benign allele \*\* [Internet]. [cited 2020 Oct 24]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?do\\_not\\_redirect&rs=rs699947](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs699947)
  33. Buroker NE, Ning XH, Zhou ZN, Li K, Cen WJ, Wu XF, et al. VEGFA SNPs and transcriptional factor binding sites associated with high altitude sickness in Han and Tibetan Chinese at the Qinghai-Tibetan Plateau. *J Physiol Sci* [Internet]. 2013 May 4 [cited 2020 Sep 21];63(3):183–93. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1007/s12576-013-0257-8>

34. Yang XF, Deng Y, Gu H, Ren XT, Li N, Lim A, et al. Candidate gene association study for diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* [Internet]. 2014 Mar 3 [cited 2020 Oct 24];20:200–14. Available from: <http://www.molvis.org/molvis/v20/200>
35. Lu Y, Ge Y, Shi Y, Yin J, Huang Z. Two polymorphisms (rs699947, rs2010963) in the VEGFA gene and diabetic retinopathy: An updated meta-analysis. *BMC Ophthalmol* [Internet]. 2013 Oct 16 [cited 2020 Oct 24];13(1):1–9. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1186/1471-2415-13-56>
36. Wang H, Cheng J-W, Zhu L-S, Wei R-L, Cai J-P, Li Y, et al. Meta-Analysis of Association between the -2578C/A Polymorphism of the Vascular Endothelial Growth Factor and Retinopathy in Type 2 Diabetes in Asians and Caucasians. *Ophthalmic Res* [Internet]. 2014 [cited 2020 Oct 24];52(1):1–8. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/357110>
37. Han L, Zhang L, Xing W, Zhuo R, Lin X, Hao Y, et al. The associations between VEGF gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility: A meta-analysis of 11 case-control studies. Vol. 2014, *Journal of Diabetes Research*. Hindawi Publishing Corporation; 2014.
38. Gong J-Y, Sun Y-H. Association of VEGF Gene Polymorphisms with Diabetic Retinopathy: A Meta-Analysis. Huang Q, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Dec 20 [cited 2020 Oct 24];8(12):e84069. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0084069>
39. Fattah RAA, Eltanamly RM, Nabih MH, Kamal MM. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism is not associated with diabetic retinopathy in Egyptian Patients. *Middle East Afr J Ophthalmol* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2020 Oct 24];23(1):75–8. Available from: </pmc/articles/PMC4759908/?report=abstract>
40. Fan XH, Wu QH, Li Y, Hao Y, Ning N, Kang Z, et al. Association of polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and its serum levels with diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes: A cross-sectional study. *Chin Med J (Engl)* [Internet]. 2014 [cited 2020 Oct 24];127(4):651–7. Available from: [https://journals.lww.com/cmj/Fulltext/2014/02200/Association\\_of\\_polymorphisms\\_in\\_the\\_vascular.11.aspx](https://journals.lww.com/cmj/Fulltext/2014/02200/Association_of_polymorphisms_in_the_vascular.11.aspx)