



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
INSITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO  
XXI

TITULO

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN AT1R Y EL  
POLIMORFISMO DEL GEN I/D DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE  
LA ANGIOTENSINA CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN  
PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN POBLACIÓN  
MEXICANA

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD DE NEFROLOGIA

P R E S E N T A:

DR. EMMER GARCIA MALDONADO



ASESORA:  
DRA DOMINGA JIMÉNEZ GUZMÁN

CO-ASESORES  
DR. PEDRO TRINIDAD RAMOS  
DR. JOSÉ JESÚS PERALTA ROMERO  
DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

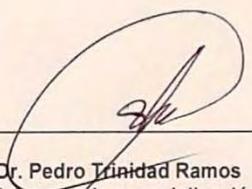
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

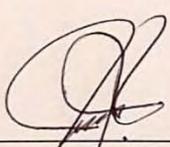
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES  
CENTRO MEDICO NACIONAL S. XXI  
"DR. BERNARDO SEPULVEDA"  
17 AGO 2016  
DIRECCION DE EDUCACION  
E INVESTIGACION EN SALUD



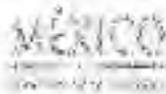
Dra. Diana Graciela Ménez Díaz  
Jefe de División de Educación en Salud  
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



Dr. Pedro Trinidad Ramos  
Profesor titular del curso de especialización en Nefrología  
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



Dra. Dominga Jiménez Guzmán  
Aseora Clínica  
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Subsecretaría de Investigación en Salud



**Dictamen de Autorización**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601, con número de Registro IS de 09 015 184 909  
CUMPLE

Resolución de 09/04/16 de JUAN CARLOS GARCÍA GUEVAS, CENTRO MÉDICO NACIONAL CICLO 2016,  
D.F. IMSS

11314 11/05/2016

**DRA. DOMINICA TIMANEZ GUZMAN**

**PRESENTE**

Congo e agradece al autor del protocolo de investigación con título:

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN AT1R Y EL POLIMORFISMO DEL GEN I/D DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE LA ANGIOTENSINA CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN POBLACIÓN MEXICANA.**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la realidad metodológica y los requerimientos de Ética e Investigación, por lo que se autoriza al **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro

R 2016 3601 58

**SUSTANCIADO**

**DR.(A). CARLOS FREDY GUEVAS GARCÍA**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

**IMSS**

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA

1.- Datos del alumno	1.- Datos del alumno
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre: Teléfono: Universidad:  Facultad o escuela:  Carrera:  No. de cuenta:	García Maldonado Emmer 5568086021 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina – División de Estudios de Posgrado Especialidad en Nefrología  514223782
2.- Datos del asesor	2.- Datos del asesor
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre:	Jiménez Guzmán Dominga
3.- Datos del co-asesor	3.- Datos del co-asesores
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre:  Apellido paterno: Apellido materno: Nombre:  Apellido paterno: Apellido materno: Nombre	Trinidad Ramos Pedro  Peralta Romero José Jesús  Cruz López Miguel
4.- Datos de la tesis	4.- Datos de la tesis
Título:   No. de páginas: Año: NÚMERO DE REGISTRO:	Asociación del polimorfismo A1166C del gen AT1R y el polimorfismo del gen I/D de la enzima convertidora de la angiotensina con Insuficiencia Renal Crónica en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 en población Mexicana  87 2017 R-2016-3601-58

## AGRADECIMIENTOS

**A mi Asesor Dra. Dominga Jiménez Guzmán** mis sinceros agradecimientos por la confianza, y por las observaciones objetivas para concluir satisfactoriamente este proyecto.

**Al Dr. Pedro Trinidad Ramos** jefe del Servicio de Nefrología por su colaboración en este trabajo.

**Al Dr. J. Jesús Peralta y Dr. Miguel Cruz López** por el su desempeño en el análisis genético de las muestras, junto con la colaboración del **Dr. Jaime Gómez, Dr. Adán Valladares y Astride Audirac.**

## DEDICATORIA

**A mis padres** con todo amor y cariño, sin ellos llegar a este punto no hubiera sido posible, les estaré eternamente agradecido por apoyarme en cada etapa de mi vida y sin duda este logro es también suyo. Los quiero mucho. Siempre serán mi inspiración y mi ejemplo a seguir.

**A mis hermanos** por confiar en mí, quienes siempre estuvieron presentes con su apoyo incondicional.

**A Dulce María Vidales Saldaña**, mi novia, amiga, compañera, por creer en mí, por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles, por compartir mis tristezas, alegrías, triunfos y derrotas como propias. Por iluminar mi vida, por darme fortaleza y esperanza. Te amo.

**A todos mis maestros** que han puesto su granito de arena en mi formación profesional, me llevo conmigo cada una de sus enseñanzas y seguirán formado parte de mi actuar médico.

## INDICE

INDICE.....	6
ABREVIATURAS.....	7
RESUMEN.....	8
ANTECEDENTES.....	9
JUSTIFICACION.....	22
PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.....	23
OBJETIVO GENERAL.....	24
MATERIAL Y METODOS.....	25
ANALISIS ESTADISTICO.....	32
ASPECTOS ETICOS.....	33
RECURSOS HUMANO Y FINANCIEROS.....	34
RESULTADOS.....	35
DISCUSIÒN.....	58
CONCLUSIÒN.....	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXOS.....	72-85

## **ABREVIATURAS**

**DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2**

**TDDMT: Tiempo de Diagnostico de Diabetes Mellitus tipo 2**

**ERC: Enfermedad renal crónica.**

**IRC: Insuficiencia Renal crónica.**

**ND: Nefropatía Diabética.**

**HAS: Hipertensión arterial sistémica**

**TFG: Tasa de Filtrado Glomerular**

**KDOQI: Kidney Disease Outcomes Quality Initiative**

**KDIGO): Grupo de Kidney Disease: Improving Global Outcomes**

**NICE: National Institute of Health and Clinical Excellence**

**ECA: Enzima convertidora de angiotensina**

**ICC: Índice de comorbilidad de Charlson**

**PCR: Reacción de cadena de polimerasa.**

## RESUMEN

### ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN AT1R Y EL POLIMORFISMO DEL GEN I/D DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE LA ANGIOTENSINA CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN POBLACIÓN MEXICANA

En México la prevalencia de nefropatía diabética (ND) oscila entre un 20-40% en pacientes con diabetes tipo 2 (DT2), por lo cual es considerada una de las complicaciones microvasculares crónicas más comunes que conllevan a la enfermedad renal crónica (ERC). Se han identificado distintos factores que conllevan a la ERC, y se han sugerido que los factores genéticos pueden modular el riesgo del desarrollo de las complicaciones renales secundarias a DT2. Múltiples estudios demuestran la asociación entre el polimorfismo I/D del gen ECA y el polimorfismo A/C del AT1R en la progresión de la enfermedad renal. Las discrepancias en los resultados pueden atribuirse a problemas en el diseño de los estudios, el tamaño de la muestra y el tipo de población estudiada.

El objetivo del presente estudio es determinar si las variantes polimórficas I/D en el gen de la ECA, A1166C del gen AT1R, están asociadas con ERC terminal en pacientes con ND comparado con paciente con DT2 sin nefropatía diabética o ERC.

**METODO:** Se realizó un estudio de 191 casos (pacientes con DMT2 y con IRC) y 196 controles (pacientes con DMT2 sin ND). A todos los pacientes se le realizó extracción del DNA genómico a partir de las células mononucleares de sangre periférica por el método basado en la separación por columnas. Al DNA se le evaluó su integridad por electroforesis y su cuantificación con espectrofotómetro a longitud de onda de 260/280 nm, posteriormente la genotipificación de los SNPs candidato por medio de PCR en tiempo real, por medio de la utilización de la plataforma Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems- Life Technologies, Foster City, CA, USA), con sondas de hibridación al DNA TaqMan® de la tecnología de Applied Biosystems. Se integró en una base de datos, se realizará el análisis descriptivo de la información mediante frecuencias simples y absolutas, así como medidas de tendencia central y dispersión. Para evaluar el grado de asociación entre las variables y las covariables, se utilizarán modelos univariados y bivariados utilizando la prueba  $X^2$  o prueba exacta de Fisher para variables discretas; o bien la prueba t de Student, para variables continuas. Se realizó un análisis multivariado mediante un modelo de regresión logística no condicional, para variables dependientes discretas; y un modelo de regresión lineal para las variables dependientes continuas. Para todas las pruebas se considerará un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Para el análisis se utilizará el programa estadístico Excel y SPSS.

**RESULTADOS:** En el periodo comprendido entre Marzo y Julio de 2016, se analizaron un total de 386 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, de los cuales 191 pacientes con IRC secundaria a ND con terapia de sustitución renal se incluyeron al grupo de los casos y 195 pacientes sin ND se incluyeron como grupo control, Las características demográficas y clínicas corresponden 169 hombres y 117 mujeres, con una media de edad de 59.9 años para los hombres y 53.9 para las mujeres, con antecedente familiar de DMT2 en el 74% de los pacientes con IRC. Con diferencia significativa en cuanto al tiempo de diagnóstico de DMT2 mayor en el grupo con IRC con tiempo promedio 19.30 años, y de 9.22 años para el grupo de DMT2 sin ND. Se observó que ambos grupos fueron significativamente diferentes con respecto al antecedente de sexo (más porcentaje de hombres en el grupo de los casos), Retinopatía, HAS, tratamiento con IECA o ARA, IMC, e índice de comorbilidad de Charlson, con ( $p < 0.05$ ). Se observó un porcentaje mayor (48.7%) de pacientes con HAS en el grupo de los controles con respecto al grupo de los casos (38.2%), y a pesar de ello fueron tratados con antihipertensivos tipo IECA o ARA en menor porcentaje (40.5%) a diferencia del 67% en el grupo de los controles.

La prevalencia del polimorfismo A1166C del gen AT1R fue de 51.5% para el Genotipo AA, 37.97% para el genotipo AC y 10.33% para el genotipo CC, y del gen I/D ECA fue de 33.51% para el genotipo II, 55.50% para el genotipo ID, y 10.99% para el genotipo DD, por tanto no se asociaron con Insuficiencia Renal Crónica en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.

**Conclusión:** El polimorfismo A/C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 de nuestro medio no se asocia con progresión de Enfermedad Renal Crónica, por lo tanto no pueden ser utilizados como marcadores de riesgo al comparar grupos de pacientes con DT2.

## **I. ANTECEDENTES**

### **1.1 EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2**

En el año 2011 se estimó que más de 340 millones de personas padecían Diabetes Mellitus (DM) a nivel mundial<sup>1</sup>, esta cifra equivale a un 5% e incluso hasta un 10% de la población mundial si tomamos en cuenta las personas que en este momento desconozcan su condición clínica<sup>2</sup>. La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) es el tipo más común dentro de la clasificación de las DM según la propuesta descrita por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en 1997. Se ha descrito que cerca del 90 al 95% de todos los casos de DM son del tipo 2 según la OMS, y se estima que en mundo existen casi 250 millones de personas con este tipo de diabetes, además que aproximadamente 300 millones están en riesgo de presentarla.

Se ha considerado a la DMT2 como un problema de salud pública prioritario, ya que cada vez afecta a más personas en edad productiva y en edades más tempranas de la vida incluyendo a jóvenes y niños. La OMS describe que México se encuentra entre los primeros 10 países con mayor prevalencia de diabetes. Los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del año 2012 (ENSANUT 2012) describen que en México incremento en un 4.7%, pasando de una tasa de morbilidad de 342.1 a 358.2 casos por cada 100 mil habitantes entre los años 1998-2012, además de haberse identificado 7.3 millones de personas con DMT2 diagnosticada, siendo adultos un 6.4 millones, este dato es importante de destacar ya que en porcentajes de la población adulta total un 9.2% ya presenta la enfermedad y un 16% de estos (poco más de un millón) reportan no contar con protección en salud. Según la ENSANUT 2012 un 42% (2.7 millones) son derechohabientes del IMSS, 12% (800 mil) de otras instituciones de seguridad social, y 30% (1.9 millones) afiliados al Sistema de Protección Social de Salud<sup>3</sup>.

## **1.2 DMT2 Y COMORBILIDADES ASOCIADAS A SU FISIOPATOLOGÍA**

La DMT2 se considera una enfermedad multifactorial, donde los factores ambientales y genéticos coexisten en su etiología. El incremento en la incidencia de la DMT2 podría ser por una parte el resultado de una transición epidemiológica junto con la adaptación de estilos de vida poco favorables en los últimos 20 años, tal como se ha reportado en otros países<sup>4</sup>. En México, ha sido evidenciado el incremento de la enfermedad; como se ha documentado en los Centros de Salud (CS) del país<sup>5</sup>. El cambio en los estilos de vida y las mejoras en los servicios de salud, han contribuido en las expectativas de vida en México gracias a la mejora del desarrollo económico y social de la población mexicana. Sin embargo, muchas de las enfermedades crónicas degenerativas se pueden explicar por los estilos de vida poco saludables, en los que figuran una alta ingesta de alimentos hipercalóricos, el tabaquismo, el alcoholismo, el sedentarismo y riesgos laborales entre otros<sup>6,7,9</sup>. El incremento de las comorbilidades más importantes asociadas a diabetes son la resistencia a la insulina, el sobrepeso y la obesidad, mismas que pueden desarrollar un estado de prediabetes o la aparición del síndrome metabólico. Estas comorbilidades son importantes de destacar ya que en México 71.28% de los adultos cursan con sobrepeso u obesidad el cual es traducido en un estado inflamatorio crónico y sostenido, que sin duda serán el preámbulo de las complicaciones clínicas<sup>3</sup>.

## **1.3 DMT2 Y COMPLICACIONES**

La DMT2 puede ocasionar complicaciones de salud muy graves como las complicaciones incapacitantes, Insuficiencia Renal Crónica (IRC) y enfermedad cardiovascular que culminan con la muerte prematura. La ENSANUT 2012 reporta que las complicaciones más frecuentes relacionadas con la diabetes son la Retinopatía

diabética 47.6% (3 millones), Neuropatía 38% (2.4 millones), daños en la retina 13.9% (889 mil), amputaciones 2% (128 mil), diálisis 1.4% (89 mil) e infartos 2.8% (182 mil). Del total de los 89 mil individuos que reportaron diálisis, 21 mil son afiliados al SPSS, 43 mil derechohabientes del IMSS, y 15.8 mil de otras instituciones de seguridad social. En cuanto los costos derogadas por la enfermedad en el año 2012, consideraron las estimaciones hechas para México sobre el costo anual de la atención de la diabetes, que sitúa el costo de atención por parte de los proveedores, en 707 dólares por persona por año, por lo tanto en el 2012 se requirieron 3,872 millones de dólares para el manejo de la diabetes, lo que representa un incremento de 13% con relación a la cifra estimada para 2011<sup>10</sup>. Para contextualizar esta cifra, el monto es superior a los 3 790 millones asignados al Seguro Popular en 2010. Basta comentar que los datos disponibles del Observatorio Mundial de la Salud (Global Health Observatory Data Repository) de la OMS describen que en 2012 el gasto total en salud por habitante en México es de 1,062 y que el gasto total en salud como porcentaje del PIB fue del 6.2.

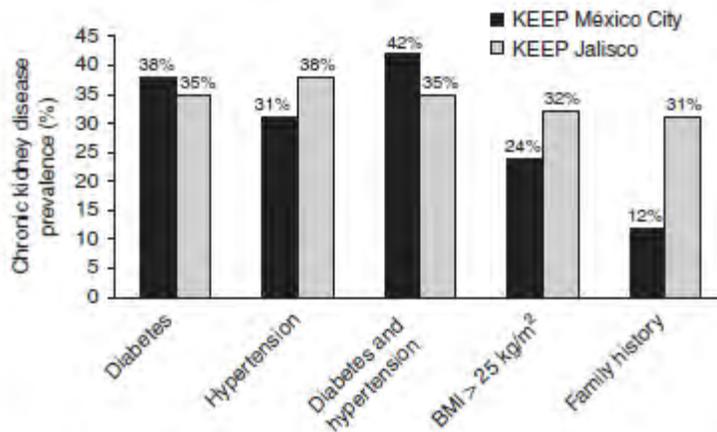
#### **1.4 ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA**

La enfermedad renal crónica (ERC) es una patología irreversible secundaria en un gran porcentaje a complicaciones de enfermedades crónico degenerativas y es definida en términos generales como el daño renal de una duración igual o mayor a tres meses, caracterizado por anormalidades estructurales o funcionales con o sin descenso de la tasa de filtración glomerular (TFG) manifestado por anormalidades patológicas o marcadores de daño renal incluyendo anormalidades en la composición de la sangre u orina, o anormalidades en pruebas de imagen; o bien TFG por cifras menores de 60ml/min/1.73m<sup>2</sup> por más de tres meses con o sin daño renal siendo clasificada en 5

estudios<sup>12</sup> con modificaciones en el 2005 por el grupo de Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)<sup>13</sup> y en el 2008 por el National Institute of Health and Clinical Excellence (NICE)<sup>1</sup> considerando la subdivisión al estadio 3 en 3A (IFG de 45 a 59ml/min ) y 3B (IFG 30 a 44ml/min  $1.73m^2$  ) además de agregar el sufijo p en términos de pronóstico y por la presencia de proteinuria. La ERC actualmente es considerada un problema de salud pública a nivel mundial.

Se estima una incidencia de 346 pacientes con ERC por millón de habitantes con una prevalencia de 929 pacientes por millón de habitantes, el 8.5 % de la población tiene enfermedad renal crónica, se cuenta con alrededor de 52.000 pacientes en terapias sustitutivas, de los cuales el 80% de los pacientes son atendidos en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).<sup>15</sup> Se ha identificado una de las causas más importantes de ERC a la DT2.

Es importante destacar que, en KEEP Ciudad de México, la prevalencia de ERC por factor de riesgo era aún mayor que la prevalencia general entre los participantes diabéticos e hipertensos; 38% de los participantes diabéticos y el 42% de los participantes con diabetes e hipertensión tenían ERC. Por otra parte, sólo el 1% de los participantes en KEEP Ciudad de México eran conscientes del diagnóstico, a pesar del hecho de que el 71% había sido visto por un médico al menos una vez en el año anterior, estos datos indican fuertemente que ERC es infradiagnosticada y poco reconocida entre los individuos de alto riesgo en México<sup>11</sup>



**Figure 3 | Prevalence of chronic kidney disease among KEEP México City and KEEP Jalisco participants by risk factor.** BMI, body mass index; family history, family history of diabetes, hypertension, or chronic kidney disease.

## 1.5 NEFROPATÍA DIABÉTICA

La DM, un importante problema de salud pública, es una enfermedad crónica con una alta morbilidad y mortalidad de los pacientes<sup>16-18</sup>. La nefropatía diabética (ND) es una de las complicaciones microvasculares crónicas y graves más comunes de la DM y una de las causas más importantes de ERC. Casi un 30% de los pacientes con DM tipo 1 (DMT1) o DMT2 la desarrollan<sup>19,20</sup> ND, con una prevalencia del 20-40% en pacientes con DMT2 conduce a Insuficiencia Renal Crónica (IRC)<sup>21</sup>.

Otros factores, como un mal control glucémico o de la presión arterial, también desempeñan un papel preponderante en el desarrollo de esta complicación.<sup>22,23</sup> Sin embargo, no todos los individuos con un control deficiente de estas variables la desarrollan, por lo que se han investigado factores no glucémicos que puedan modular el riesgo de complicaciones renales de la diabetes como los factores genéticos, como indican algunos estudios de ligamiento familiar<sup>24</sup> y predisposición genética<sup>25</sup>.

La ND es un diagnóstico clínico que históricamente se ha basado en el hallazgo de proteinuria en una persona con diabetes. El desarrollo de las pruebas más sensibles específicas para la albúmina ha dado lugar a la detección de microalbuminuria o "nefropatía incipiente". El límite inferior de la microalbuminuria se establece un tanto arbitrariamente a una tasa de excreción de albúmina (AER) 30 mg / 24 h o a un cociente albúmina/creatinina (ACR) de 30 mg / g (Tabla 1)<sup>26</sup>.

La mayoría de las sociedades profesionales en el estudio de la diabetes y la enfermedad renal actualmente hacen hincapié por la detección de microalbuminuria en pacientes con diabetes.<sup>27,28</sup> La mayoría de las cohortes longitudinales reportan un aumento significativo en la prevalencia de microalbuminuria sólo después de 5 años de duración, aunque 1 estudio transversal describió una prevalencia significativa de alrededor del 15% en pacientes con 1 a 5 años de diabetes<sup>29</sup>, por el contrario, el UKPDS encontró una concentración urinaria de albúmina mayor de 50 mg / l en el 6,5% de los nuevos diagnósticos de los pacientes, principalmente con DMT2<sup>30</sup>. En consecuencia, mientras que el cribado puede esperar hasta 5 años después de la aparición de la DMT1, la incertidumbre para establecer el inicio de la DMT2 con certeza hace el cribado al diagnóstico obligatorio.

## 1.6 GENETICA DE LA ERC

El desarrollo de la nefropatía en individuos diabéticos depende tanto de factores metabólicos como de factores genéticos; entre los genes candidatos se encuentran los de las proteínas del sistema renina-angiotensina, el cual puede estar implicado en el desarrollo de las lesiones renales mediante el incremento de la presión glomerular.

El sistema renina-angiotensina (SRA) tiene un papel importante en la regulación de la presión sanguínea, homeostasis hidrosalina, desarrollo y crecimiento celulares y reparación tisular<sup>31</sup>. La enzima convertidora de la angiotensina (ECA) es una metaloproteasa de zinc que cataliza la conversión de angiotensina I en angiotensina II y promueve la degradación de bradicinina<sup>32</sup>. Se ha descrito un polimorfismo inserción/delección (I/D), basado en la presencia (I) o ausencia (D) de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen de la ECA, que se relaciona con las concentraciones séricas<sup>46</sup> y la actividad no sólo sérica, sino también en el tejido renal, de la ECA. En los individuos homocigotos con el genotipo DD los valores de ECA son aproximadamente el doble que en los homocigotos con el genotipo II, mientras que los heterocigotos tienen valores intermedios<sup>33</sup>. El alelo D se asocia con una mayor actividad de la ECA, y en un reciente metaanálisis los resultados indican que el alelo D o homocigotos DD se asocia con la susceptibilidad a IRC en pacientes con ND<sup>34</sup>. En población italiana no se encontraron diferencias en las distribuciones de las frecuencias genotípicas polimorfismo I/D del ACE en relación con las enfermedades cardiovasculares<sup>35</sup>. En pacientes coreanos con IRC secundaria a ND expresaron con mayor frecuencia el genotipo DD.<sup>36</sup> En pacientes de la India el genotipo ECA DD implican un fuerte papel posible en el estado hipertenso y en el daño renal<sup>37</sup>.

En América Latina, la población mexicana tiene una diversidad de grupos étnicos de los cuales 91% son mestizos, que tienen una mayor variación biológica procedentes de tres grupos étnicos principales: indígenas (65%), españoles (30%), y los africanos (5%)<sup>38</sup>. La presencia del genotipo DD de la ECA se asocia con el desarrollo de nefropatía diabética incipiente y nefropatía diabética establecida<sup>39</sup>, así como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad renal en las mujeres mestizas de México con DT2, lo que indica un posible efecto sexo-genotipo DD asociado en la enfermedad renal<sup>40</sup>.

Alternativamente, en estudios en ratas, el tratamiento con estradiol disminuye actividad de ACE y la expresión del ARNm del receptor tipo 1 de la angiotensina en diferentes células y tejidos<sup>41</sup>.

La angiotensina II es un potente vasoconstrictor y mediador de la proliferación celular, síntesis y acumulación de proteínas de matriz extracelular. El polimorfismo A1166C del gen AT1R es debido a una sustitución de citosina por adenina en la posición 1166. Se ha considerado un factor de riesgo para la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares<sup>42</sup>, El genotipo CC ATR1 se asoció con la susceptibilidad de desarrollar nefropatía diabética en pacientes con Diabetes Mellitus en la población en general como en la población asiática, y el alelo C se asoció con la susceptibilidad de Nefropatía diabética en Diabetes Mellitus en los asiáticos<sup>43</sup>.

En un estudio en población caucásica se demuestran la asociación entre el polimorfismo A/C del ATR1 y progresión de la enfermedad renal. El genotipo CC/CA de este polimorfismo podría servir como un predictor para IRC y podría ser útil en la planificación de estrategias terapéuticas para los pacientes individuales<sup>44</sup>.

En los estudios genéticos, algunos resultados en población española han mostrado que pacientes con DT2 portadores de los polimorfismos M235T de AGT, I/D de ACE y

A1166C de ATR1 no influyen en la progresión de la nefropatía en dos años, evaluada mediante el incremento en la concentración sérica de creatinina<sup>45</sup>.

Las discrepancias en los resultados pueden atribuirse a problemas en el diseño de los estudios, el tamaño de la muestra y el tipo de población estudiada, por lo que el presente trabajo tiene por objetivo estudiar la posible asociación entre el polimorfismos del gen de la ECA, y AT1R con el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética a ERC con requerimiento de terapia de sustitución renal en una población mexicana.

En términos generales, con objeto de poder dar respuesta a toda la controversia planteada, es por ello que surge la necesidad de establecer estudios colaborativos multicéntricos que puedan ser capaces de reunir un número importante de pacientes y clarificar los numerosos interrogantes planteados sobre la relación de los polimorfismos I/D del gen ECA, AGT ATR1 y la enfermedad renal.

Debido a la importancia de encontrar marcadores genéticos asociados a la ERC en población derechohabiente del IMSS, particularmente nos interesa generar conocimiento relacionado con la fisiopatología de la enfermedad y su posible utilidad clínica en la prevención, diagnóstico, y tratamiento oportuno.

### **1.7 Índice de Comorbilidad de Charlson**

En diferentes estudios se ha demostrado que una mayor comorbilidad en los adultos mayores trae consigo un impacto negativo en la mortalidad, función física y calidad de vida. Por tal motivo resulta de suma importancia incluir la evaluación de la comorbilidad cuando se realiza un trabajo de investigación en adultos mayores.

El índice de comorbilidad de Charlson (ICC) fue creado con el objetivo de desarrollar un instrumento pronóstico de comorbilidades que individualmente o en combinación pudiera incidir en el riesgo de mortalidad a corto plazo de pacientes incluidos en estudios de investigación. El índice consiste en 19 condiciones médicas catalogadas en cuatro grupos de acuerdo al peso asignado a cada enfermedad, la puntuación total es la sumatoria de todas las entidades clínicas presentadas por el paciente evaluado, que da como resultado el riesgo relativo de mortalidad.<sup>46,47</sup>

La predicción exacta de la supervivencia para pacientes con Enfermedad renal terminal y múltiples condiciones comórbidas es difícil. Se han realizado estudios que evalúan la validez del Índice de Charlson en pacientes con IRC en diálisis o hemodiálisis encontrando en éste, una herramienta válida para evaluar la comorbilidad y predecir la supervivencia en pacientes con enfermedad renal crónica terminal, así como una predicción de costos a nivel institucional en estos pacientes<sup>47</sup>.

### **1.8 Fundamento de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).**

En los estudios de genética poblacional, son necesarios métodos que permitan realizar la clasificación de los alelos presentes en la muestra y así mismo obtener las frecuencias alélicas. Uno de estos métodos es la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés: Polymerase Chain Reaction), con la cual se puede amplificar un sitio de interés en la secuencia de ADN<sup>49</sup>.

Esta técnica se basa en una reacción enzimática que amplifica una región específica de ADN durante varios ciclos repetidos utilizando a la enzima ADN polimerasa, que es capaz de sintetizar ADN. Los elementos necesarios para realizar esta reacción son: el ADN molde, la enzima, oligonucleótidos o *primers*, los desoxirribonucleicos trifosfato (dNTPs: adenina, guanina, citosina y uracilo), el ion de magnesio ( $Mg^{2+}$ ), solución amortiguadora y agua. El proceso comprende tres etapas: desnaturalización, hibridación y extensión<sup>49</sup>. El proceso de la PCR se muestra esquemáticamente en la Figura 4.

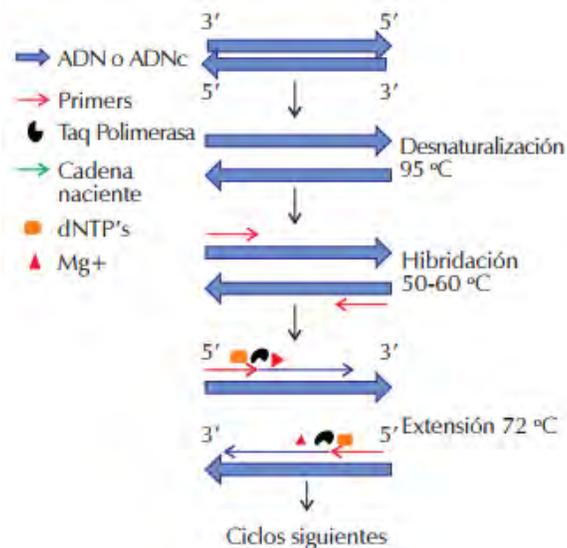


Figura 4. Proceso general de la PCR. Se muestran las tres etapas: desnaturalización, hibridación y extensión. En la desnaturalización se separan las dos cadenas de ADN aumentando la temperatura a 95°C. En la hibridación se lleva a cabo la unión de los primers con el sitio a amplificar disminuyendo la temperatura (50-60°C). En la etapa de extensión, la ADN polimerasa sintetiza nuevas cadenas de ADN complementarias añadiendo dNTPs en dirección 5' a 3'.

La PCR inicia con un proceso de la desnaturalización, en donde las muestras de ADN se someten a altas temperaturas (alrededor de 95°C) para que ambas cadenas se separen. Posteriormente, se lleva a cabo la hibridación entre los primers y las cadenas de ADN en el sitio de interés; la temperatura en esta etapa debe de estar en un rango de 50-60 °C para lograr una unión óptima. Por último, se lleva a cabo la extensión, en donde la polimerasa comienza a replicar el ADN en dirección 5' a 3', añadiendo dNTPs complementarios.

Por otra parte, un PCR en tiempo real se realiza de la misma forma, con la diferencia de que esta utiliza compuestos fluorescentes en la reacción; los cuales son detectados en cada ciclo, obteniéndose una señal la cual es proporcional a la cantidad de productos de PCR<sup>49</sup>.

### **1.8 Ensayo de genotipificación con sondas TaqMan®.**

El ensayo de genotipificación, se basa en una PCR en tiempo real en donde se utilizan sondas TaqMan®, las cuales son oligonucleótidos que contienen dos fluoróforos: VIC® y FAM®. Estos están unidos a un quencher que se encarga de estabilizar la molécula para que no emita fluorescencia. Al momento en que la ADN polimerasa está realizando el proceso de extensión, al pasar por el fluoróforo rompe el enlace que lo une al quencher lo que provoca que se emita fluorescencia.

En la Figura 5 se muestra cómo ocurre esta reacción.

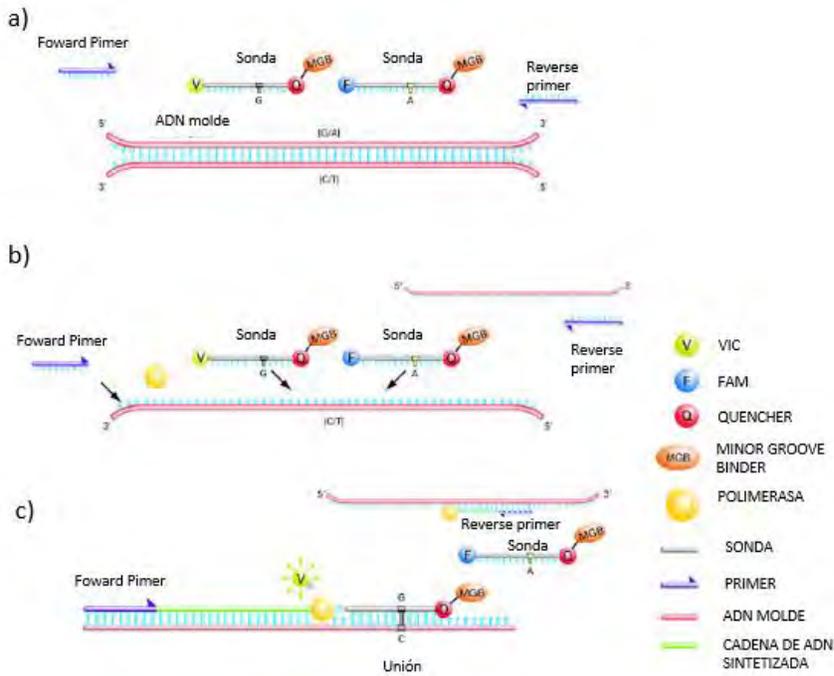


Figura 5. Etapas de la PCR en tiempo real con sondas TaqMan®. En a) se muestran los componentes del ensayo y el ADN molde. En b) se muestra el proceso de desnaturalización y de hibridación de la sonda. En c) se muestra cómo la ADN polimerasa realiza el proceso de extensión, y rompe la unión del fluoróforo con el *quencher*; produciendo fluorescencia (Applied Biosystem, Foster City California).

Los dos fluoróforos emiten a diferentes longitudes de onda, las cuales corresponden a cada alelo analizado. Por lo tanto, con esto se puede diferenciar si la muestra presenta el alelo ancestral o la variante. La fluorescencia es captada y en base a sus valores se realiza la discriminación genotípica, clasificando a la muestra como homocigoto para el alelo ancestral, heterocigoto u homocigoto para el alelo variante<sup>50</sup>.

## II. JUSTIFICACIÓN:

La DM, un importante problema de salud pública, es una enfermedad crónica con una alta morbilidad y mortalidad de los pacientes. Se ha demostrado que la población mexicana tiene un riesgo relativamente alto a DT2 esto en relación a cambios en el estilo de vida en las últimas décadas. La patogénesis de esta complicación drástica no se entiende claramente, pero los datos disponibles sugieren que múltiples factores contribuyen a esta complicación, tales como alteraciones hemodinámicas, alteraciones metabólicas, diversos factores de crecimiento y factores genéticos. Diversos factores contribuyen a la predisposición de la enfermedad así como a las complicaciones. La ND es una de las complicaciones microvasculares crónicas y graves más comunes de la DM2 y una de las causas más importantes de ERC. Casi un 30% de los pacientes con DM desarrollan ND, con una prevalencia del 20-40% en pacientes con DT2 conduce a IRC. Es importante destacar que en KEEP Ciudad de México, la prevalencia de ERC por factor de riesgo era aún mayor que la prevalencia general, 38% de los participantes diabéticos y el 42% de los participantes con diabetes e hipertensión tenían ERC, además tomar en cuenta que es infradiagnosticada entre los individuos de alto riesgo. Para entender la nefropatía diabética, se necesita generar conocimiento que permita identificar si la población con ND posee marcadores genéticos asociados a la ERC descritos en poblaciones caucásicas y asiáticas, con el fin de poder contar con pruebas genéticas fidedignas y rápidas que identifiquen a la población en riesgo de desarrollar IRC desde etapas tempranas del diagnóstico. Nuestro interés primordial es la búsqueda de marcadores asociado a la ERC con fines de diagnóstico oportuno en derecho habientes del IMSS.

Este estudio es un brazo del “ESTUDIO DE POLIMORFISMOS ASOCIADOS A INSUFICIENCIA RENAL CRONICA EN PACIENTES MEXICANOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2”, el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación y de la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS con Numero de Registro: R-2016-785-022.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

La DM es una enfermedad crónica con una alta morbilidad y mortalidad. La ND es una de las complicaciones microvasculares más graves y comunes de la DM2 y una de las causas más importantes de ERC. Casi un 30% de los pacientes con DM desarrollan ND, una prevalencia del 20-40% de pacientes con DT2 culminan en ERC terminal. Para contribuir a la disminución de casos de nefropatía diabética, se necesita generar conocimiento que permita identificar si la población con DM tipo 2 posee marcadores genéticos asociados a la ERC descritos en otras poblaciones como el polimorfismo A1166C del gen AT1R y el polimorfismo del gen I/D ECA, con el fin de contar con pruebas genéticas fidedignas y rápidas que identifiquen a la población en riesgo de desarrollar IRC desde etapas tempranas del diagnóstico de DM tipo 2.

1. ¿Cuál es la prevalencia del polimorfismo A1166C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA en pacientes con IRC secundario a ND en pacientes de nuestro medio?
2. ¿Existe asociación del polimorfismo A1166C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA en pacientes con IRC secundario a ND en pacientes de nuestro medio?

3. ¿Cuál es el riesgo que implica la asociación, si es que existe del polimorfismo A1166C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA en pacientes con IRC secundario a ND en pacientes de nuestro medio?

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la prevalencia del polimorfismo A1166C del gen AT1R y el polimorfismo del gen I/D ECA en pacientes con IRC secundario a Nefropatía Diabética en pacientes de nuestro medio.

Objetivos Particulares:

Evaluar si el polimorfismo A1166C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA están asociados con IRC secundario a Nefropatía Diabética en pacientes de nuestro medio.

Determinar el riesgo que implica la asociación, si es que existe del polimorfismo A1166C del gen AT1R y el polimorfismo I/D del gen ECA en pacientes con IRC secundario a ND en pacientes de nuestro medio y puedan ser utilizados como marcadores de riesgo al comparar grupos de pacientes con DT2.

#### **HIPÓTESIS DE TRABAJO**

Los pacientes en diálisis presentan alta prevalencia en el polimorfismos A1166C del AT1R, el cual está asociado con Insuficiencia Renal Crónica secundaria a ND en pacientes de nuestro medio. Los pacientes en diálisis presentan una alta prevalencia del genotipo DD del gen de la ECA y el riesgo de IRC en pacientes diabéticos aumenta 4 veces mayor en los pacientes con el genotipo DD de la ECA. Estas variantes genéticas pueden ser utilizadas como marcadores de riesgo al comparar grupos de pacientes con DT2.

## V. MATERIAL Y METODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO: Casos y Controles.

Relación de Casos y Controles: 1:2.

2. UNIVERSO DE ESTUDIO: Sujetos mayores de 40 años, con historia al menos de 5 años de Diabetes Mellitus tipo 2.

Periodo de Estudio: De 1 de Marzo al 30 de Julio de 2016.

Lugar de Estudio: UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI en la Ciudad de México.

### 3. VARIABLES:

<b>Variable Independiente</b>	<b>Diabetes Mellitus tipo 2 sin Nefropatía Diabética</b> <b>Diabetes Mellitus con Insuficiencia Renal Cronica</b>
<b>Variable Dependiente</b>	<b>Polimorfismo I/D del gen ECA</b> <b>Polimorfismo A/C del gen AT1R</b>
<b>Otras Variables</b>	<b>Edad</b> <b>Sexo</b> <b>IMC</b> <b>Historia familiar de DM tipo 2</b> <b>Tiempo de Diagnostico de DM tipo 2</b>

	<b>HAS</b> <b>Dislipidemia</b> <b>Retinopatía diabética</b> <b>Tratamiento con IECA o ARA</b> <b>Índice de Comorbilidad de Charlson</b>
--	---

#### 4. SELECCION DE MUESTRA

##### a) TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizó el cálculo del tamaño de muestra para obtener un poder 0.9 con un nivel de significancia del 0.05 con el paquete estadístico STATA considerando las frecuencias esperadas de las variables candidatas de casos y controles, (tomando en cuenta la frecuencia alélica más baja y más alta) y considerando por lo menos una relación 1:2 (relación casos-controles). Para obtener un poder de 0.9, se requieren una n de 1563 pacientes siendo 521 casos y 1042 controles. Cabe mencionar que el presente estudio representa el 50% de la población total, ya que solo es un brazo del **“ESTUDIO DE POLIMORFISMOS ASOCIADOS A INSUFICIENCIA RENAL CRONICA EN PACIENTES MEXICANOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2”**.

## **5. CRITERIOS DE SELECCIÓN.**

### **a) Criterios de inclusión**

En el estudio se incluyó en el grupo control pacientes con edad mayor a 40 años, no emparentados, con diagnóstico de DT2 de acuerdo a las guías establecidas por la ADA 2015 sin nefropatía diabética, con por lo menos 5 años de diagnóstico, con normoalbuminuria (< 30mg/dl), que fueron captados de la Unidad de Investigación en Bioquímica del Hospital de Especialidades CMN SXXI.

En el grupo de Casos: Pacientes con el diagnóstico de IRC secundaria a ND, con por lo menos 5 años de diagnóstico de DT2, en tratamiento de sustitución renal con Diálisis peritoneal o Hemodiálisis. Los cuáles fueron captados de la Consulta externa y la Unidad de Hemodiálisis del servicio de Nefrología de CMN SXXI. La unidad de Hemodiálisis, tiene una población aproximada de 200 pacientes, de los cuales aproximadamente el 50% son portadores de IRC secundaria a Nefropatía diabética, población que constantemente es referida de los diferentes Hospitales Generales de la Zona Sur, aproximadamente 40 a 60 pacientes incidentes por mes para apoyo con sesiones de Hemodiálisis, que posteriormente son subrogados a Unidades de Hemodiálisis externas.

### **b) Criterios de exclusión**

Pacientes menores de 40 años de edad, emparentados.

Pacientes con historia de DT2 menor a 5 años

Pacientes con DT2 con micro o macroalbuminuria en el grupo de los controles y sin terapia de sustitución renal en el grupo de los casos.

Pacientes con DT1, enfermedades autoinmunes, pancreatetectomizados, o neoplasias.

Pacientes que no acepten participar en el protocolo

Criterios de eliminación:

Pacientes con Diabetes Mellitus 2 con o sin Nefropatía que no acudieron para la toma de muestra venosa periférica.

## **6. Descripción general del estudio:**

El diseño del estudio es de tipo Casos y controles con una relación de 1:1, el cual comprende dos grupos de pacientes con DT2 en los extremos de riesgo de la función renal:

- Grupo 1 (Controles), pacientes con DT2 sin ND.
- Grupo 2 (Casos), pacientes con el diagnóstico de IRC secundaria a ND.

## **MÉTODO Y TECNICA**

El presente estudio se realizó en el periodo comprendido del 1 de Marzo 2016 al 10 de Julio de 2016. Se captaran pacientes en el servicio de Hemodiálisis y de la Consulta externa de Nefrología que cumplan con criterios de selección y acepten participar en el estudio previa autorización bajo consentimiento informado para inclusión en protocolo de estudio.

**Evaluación Clínica:** La captura de datos se realizó con el llenado del cuestionario incluido en anexo 1, el cual incluye variables demográficas, como genero, edad, sexo, Peso, Talla, IMC, historia familiar de diabetes Mellitus tipo 2, tiempo de evolución de Diabetes Mellitus tipo 2, presencia de complicaciones asociadas a la misma como Retinopatía Diabética, Hipertensión arterial sistémica e índice de comorbilidad de Charlson. Posteriormente se tomó una muestra venosa (tipo tejido sanguíneo) menor a

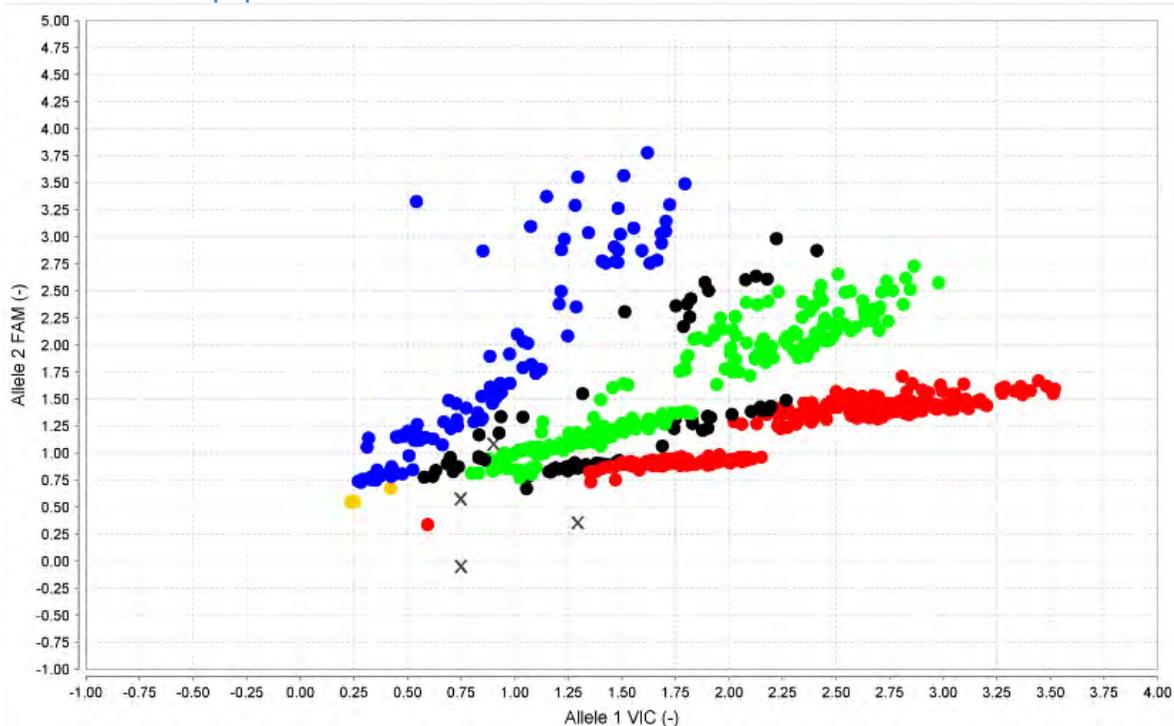
5ml con todas las medidas de seguridad aplicables al manejo de material biológico infectocontagioso con apego a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, aplicando todas las especificaciones descritas para la protección de los binomios ambiental-salud, ambiental-residuos peligrosos, así como manejo y clasificación de residuos peligrosos biológicos-infecciosos (RPBI) de manera adecuada.

**Extracción y aislamiento del DNA:** se realizó a partir de las células mononucleares de sangre periférica por el método basado en la separación por medio del uso de columnas con el equipo AutoGenFlex STAR, LAB MARK, (genomic DNA extraction system, Hill Road, Holliston, MA. USA) con los reactivos de QiagenFlexi Gene DNA AGF3000 (QIAamp DNA Blood Midi/ Kit, Qiagen, Alemania) y siguiendo las especificaciones recomendadas.

**Evaluación de la Integridad del ADN:** La integridad se evaluó por fraccionamiento electroforético en geles de agarosa al 0.9% teñidos con bromuro de etidio en cámaras de BIORAD (CA, USA), mientras que la pureza se evaluó por medio de un espectrofotómetro a longitud de onda de 260/280 nm, la concentración se determinó con el equipo (EpochBiotechWinooski, VT, US). Se considera un rango de 1.8-2.0 en la relación de absorbancia A260/A280. Posteriormente, se realizó alícuotas de diluciones del DNA para tener una concentración aproximada de 33.33 ng/μL en tubos eppendorf de 0.5 mL y se congelarán a -70 C hasta su uso. De estas diluciones se verificó la integridad del DNA por medio de fraccionamiento electroforético en geles de agarosa antes mencionado y su purificación. Todas las determinaciones se realizaron de acuerdo a especificaciones del buen uso de laboratorios, ubicado en la Unidad de Investigación de Bioquímica.

**Genotipificación:** La genotipificación para el gen ATR1 se realizó por medio de PCR en tiempo real, con la plataforma Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems- Life Technologies, Foster City, CA, USA). Esta plataforma detecta la fluorescencia de sondas de hibridación al DNA en la secuencias consenso, las sondas a utilizar son TaqMan® de la tecnología de Applied Biosystems ([www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com)). Se utilizaron placas de 384 pozos en las cuales se añadió 1.5 µL de la muestra de DNA diluida, 0.5µL de sonda para ensayos TaqMan® y 3 µL de TaqMan® Master Mix, para obtener una concentración final de 50 ng/ µL, 1x y 1x, respectivamente. La placa se introdujo al equipo 7900HT el cual realizó función de termociclador, observando la amplificación del DNA en tiempo real. Los datos se analizaron por medio del software del equipo para obtener las frecuencias alélicas y genóticas (ver figura 2). Estos datos se procesaron en SPSS, Excel.

Figura 2. Interpretación de las frecuencias genóticas del gen ATR1 (RS 5186) en el software del equipo.



Puntos rojos corresponden al Hocigotos dominante, puntos verdes corresponden al Heterocigoto, y puntos azules corresponden al Homocigoto de la variante

En el caso del polimorfismo I/D para el gen ECA, a amplificación de PCR se genotipo separándolos en la electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % y la visualización con tinción de bromuro de etidio. Los productos de la primera PCR que produce un fragmento de 490 pb en presencia del inserto (alelo I) o de 190 pb en ausencia del inserto (alelo D). Los individuos que presentan una banda de 190 y otra de 490 pb se clasifican como heterocigotos ID (figura 2). Debido a la amplificación preferente del alelo D sobre el alelo I, todas las muestras identificadas como DD se someten a una segunda amplificación específica del inserto (PCR 2). Si el resultado es una banda de 335 pb el individuo se reclasifica como ID y si la banda está ausente se confirma como DD. La identificación del alelo se llevó a cabo mediante el uso de muestra de prueba ( $\phi$ HindIII digest DNA ladder), (Amersham Biosciences).

Figura 2 Figura ilustrativa del genotipo homocigoto DD, homocigoto II y heterocigoto ID



Muestra Carril 12 y 27: homocigótica DD, muestra. Carril 28 y 37: homocigota II. Muestra Carriles 22 y 47: Heterocigotos ID muestra de identificación. Carril MPb: (escalera de ADN ( $\phi$ HindIII digest))

## VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las variables recabadas se integraron en una base de datos en Excel y SPSS, para el análisis descriptivo de la información mediante frecuencias simples y absolutas, así

como medidas de tendencia central y dispersión. Para evaluar el grado de asociación entre las variables y las covariables, se utilizaron modelos univariados y bivariados mediante la prueba  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher para variables discretas; o bien la prueba t de Student, para variables continuas. Se realizó un análisis multivariado incluyendo a las variables confusoras (edad y sexo) mediante un modelo de regresión logística no condicional, para variables dependientes discretas; y un modelo de regresión lineal para las variables dependientes continuas. Para todas las pruebas se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Para el análisis se utilizaró el programa estadístico Excel y SPSS. La parte central del análisis estadístico se realizó con el software SPSS ver 11 (Chicago IL).

Dos comparaciones de grupos se realizaron mediante chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) para las variables categóricas y pruebas t de Student o ANOVA de sentido único para las variables continuas.

La distribución de los alelos en grupos estudiados fue probado para su instalación en el equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) (mediante el programa de base de la tela: <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>) (35) a través prueba la diferencia entre las frecuencias observadas y esperadas de las variantes genéticas que utilizan la prueba de ajuste  $\chi^2$ . Además, la fuerza de la asociación entre el DN y la ACE I / D polimorfismo se estimó utilizando ORs (con los correspondientes IC 95%). Los ORs también se realizaron para un modelo dominante [(DD% + ID%) Vs II%], un co-dominante modelo [ID% Vs (II% + DD%)] y un modelo recesivo [DD% Vs (II% + ID%)]. Se empleó el análisis de regresión logística multivariado para determinar las relaciones de los polimorfismos de genes y DN. Las asociaciones se expresan como OR ajustada con IC del 95%. Para

todos los análisis, los valores de probabilidad  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativas

#### VII. **ASPECTOS ÉTICOS:**

La elaboración de este protocolo ha tomado en consideración los aspectos éticos plasmados en la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 07 de febrero de 1984, así como los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre Principios Éticos para las Investigaciones Médicas en Seres Humano. Todos los procedimientos fueron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Título segundo de los aspectos éticos de las investigaciones en humanos, capítulo I, Artículo 17, Sección III. Se anexa hoja de consentimiento informado.

Así mismo, se hizo la aclaración que la información que nos proporcionó fue utilizada para identificarlo(a) (como su nombre, teléfono y dirección) y esta información fué guardada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios, los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad.

El participante tiene la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento de la investigación (Artículo 21, Fracciones I-VII de la Ley General de Salud).

#### **- Riesgo de la investigación.**

El estudio fué de riesgo mínimo y se solicitó a los participantes su autorización firmando una Carta de Consentimiento Informado (CCI). En la CCI se informó el objetivo del estudio y de su trascendencia. La carta explicó el objetivo, los procedimientos, los potenciales beneficios, las molestias y los posibles riesgos; asimismo, se mencionó el nombre de los responsables del estudio y aclarará la autonomía y libertad que tienen

para participar. Como parte de las consideraciones éticas se informó que se extrajo 6 ml de sangre (una cucharada sopera) y que esta cantidad no confirió riesgo la salud de los participantes produciendo molestias mínimas. Asimismo, se informó que en la sangre se estudió si existen modificaciones en el DNA que correlacionen con IRC en pacientes con DT2.

#### **VIII. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

Los investigadores responsables fueron el Dr. Emmer García Maldonado, médico residente de quinto año del servicio de Nefrología del Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS, así mismo la Dra. Dominga Jiménez Guzmán médico adscrito al servicio de Nefrología y el Dr. Pedro Trinidad Ramos Jefe del Servicio de Nefrología. Además contamos con la participación del personal médico y las facilidades de las autoridades correspondientes para llevar a cabo el estudio en la Unidad de Hemodiálisis y consulta externa de Nefrología. Actualmente, la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica cuenta con la infraestructura y recursos humanos (Dr. Miguel Cruz, Dr. J. Jesús Peralta, Dr. Jaime Gómez y Astride Audirac) necesarios para llevar a buen término el proyecto. Gran parte del equipo humano está integrado por personal con experiencia mínima de 8 años en el área de diabetes.

#### **RELEVANCIA DEL ESTUDIO**

La población mexicana tiene un riesgo relativamente alto a DT2. El presente estudio multidisciplinario tiene como finalidad el tener la posibilidad de obtener posibles marcadores de riesgo o protección de la ERC en pacientes con DT2, obteniendo conocimientos innovadores en la fisiopatología de la enfermedad y de las variantes de genes involucrados en la enfermedad así como una posible utilidad clínica en la prevención, diagnóstico, y tratamiento oportuno de la enfermedad.

## **IX. RESULTADOS**

### **POLIMORFISMO A/C DEL GEN ATR1**

En el periodo comprendido entre Marzo y Julio de 2016, se analizaron un total de 771 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, de los cuales 445 pacientes con IRC secundaria a ND con terapia de sustitución renal se incluyeron al grupo de los casos y 326 pacientes sin ND se incluyeron al grupo control, todos ellos atendidos en el servicio de Nefrología del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS. Las características demográficas y clínicas se muestran en la tabla 1, corresponden 355 hombres y 415 mujeres, con una media de edad de 61.61 años en ambos grupos (Ver gráfica 1), se muestra que existe el antecedente familiar de DMT2 en el 74% de los pacientes en el grupo de los casos.

Con diferencia estadísticamente significativa en cuanto al tiempo de diagnóstico de DMT2 mayor en el grupo con IRC con tiempo promedio 21.5 años, y de 9.69 años para el grupo de DMT2 sin ND, por lo cual se realiza una subdivisión (ver tabla 3), en la que se observa más del 97% de pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 en el grupo de los casos en comparación con el 50% de los pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 en el grupo de los controles (ver Grafica 3).

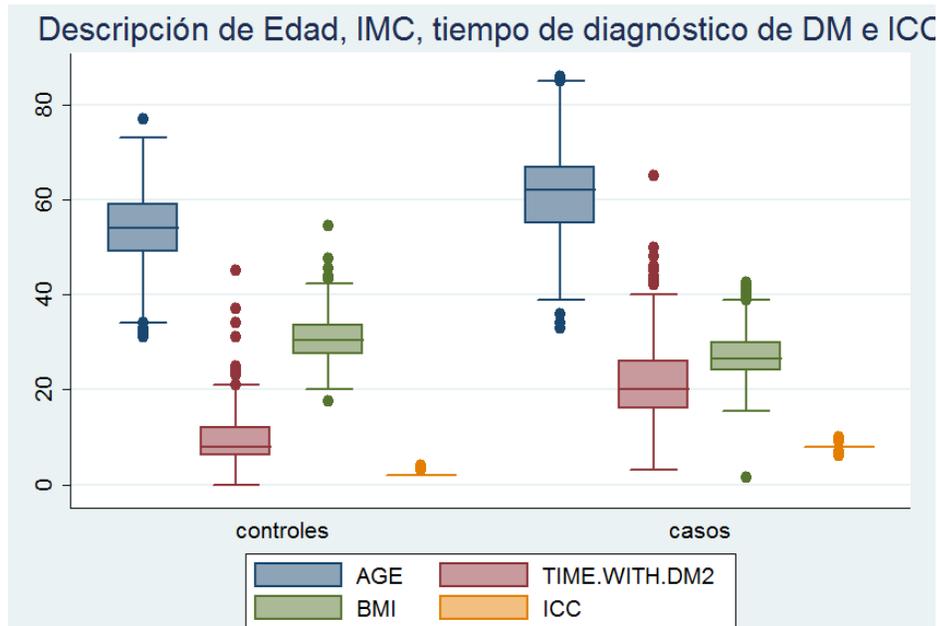
Se observó que ambos grupos fueron significativamente diferentes con respecto al sexo (más porcentaje de hombres en el grupo de los casos), Retinopatía, HAS, tratamiento con IECA o ARA, IMC, e índice de comorbilidad de Charlson, con ( $p < 0.05$ ).

Tabla 1.- Características demográficas y clínicas de la población estudiada.

VARIABLE	CASOS DMT2 CON IRC n= 445 (%)	CONTROLES DMT2 SIN ND n= 325 (%)	P
<b>Sexo</b>			
Masculino	243 (68.45)	112 (31.55)	0.0001
Femenino	202 (48.67)	213 (51.33)	0.0001
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	61.61 ( $\pm 9.2$ )	53.43 ( $\pm 8.01$ )	0.161
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	27.2 ( $\pm 5.06$ )	30.82 ( $\pm 4.9$ )	0.0001
<b>Historia Familiar de DMT2 n(%)</b>	330 (74)		
<b>Historia familiar de IRC n(%)</b>	29 (6.51)		
<b>Tiempo de diagnóstico DMT2 (años)</b>	21.45 ( $\pm 8.37$ )	9.69 ( $\pm 5.67$ )	0.0001
<b>Retinopatía n(%)</b>	344 (77.40)	45 (13.84)	0.0001
<b>HAS n(%)</b>	160 (35.95)	149 (45.84)	0.014
<b>Dislipidemia n(%)</b>	183 (41.12)	120 (36.92)	0.239
<b>Tratamiento con IECA o ARA n(%)</b>	301 (67.64)	131 (40.33)	0.0001
<b>ICC (score)</b>	7.98 ( $\pm 0.65$ )	2.28 ( $\pm 0.55$ )	0.0001

IMC: Índice de masa corporal, DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, HAS: Hipertensión arterial sistémica, ICC: Índice de Comorbilidad de Charlson.  
Se observó la distribución normal de las variables cuantitativas con la prueba t-student, y en las que no hubo una distribución normal se usó la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon

Grafica 1.- Descripción de edad, IMC, tiempo de diagnóstico de DM e ICC en grupo de DMT2 sin ND (0), y DMT2 con IRC (1).

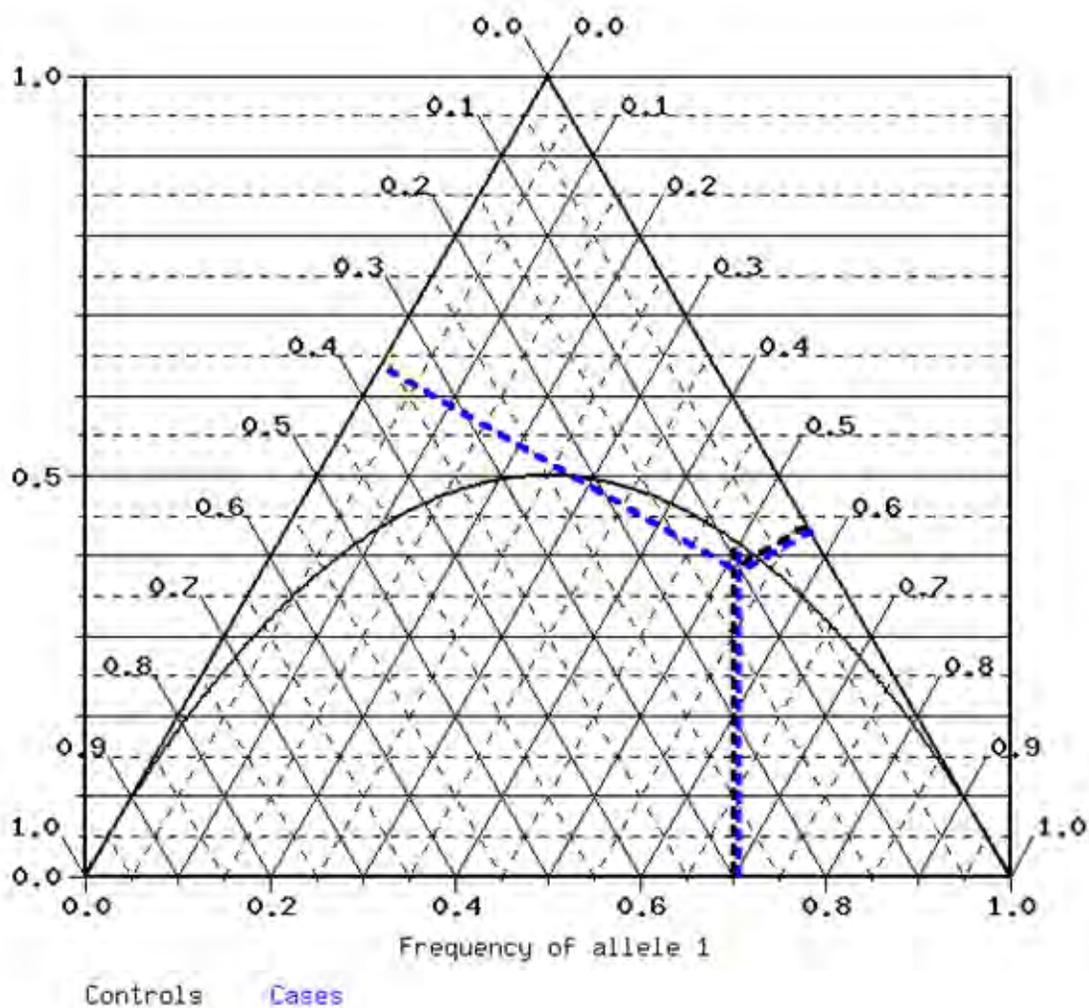


AGE: Edad ( $p=0.161$ ).

ICC: Índice de Comorbilidad de Charlson, BMI e IMC: Índice de masa corporal, TIME.WITH.DM2 tiempo de diagnóstico de Diabetes mellitus tipo 2 ( $p=0.0001$ ).

Las frecuencias genotípicas observadas fueron en equilibrio de Hardy-Weinberg en los pacientes con DMT2 con IRC ( $\chi^2=3.12$ ,  $p=0.080$ ) y en los controles pacientes con DMT2 sin ND ( $\chi^2=3.06$ ,  $p=0.145$ ), tabla 2 y figura 3, predice que la frecuencia genotípica para el homocigoto dominante AA es  $p^2$ , la del heterocigoto Aa es  $2pq$  y la del homocigoto recesivo aa, es  $q^2$ , es una expresión de la noción de una población que está en "equilibrio genético", y es un principio básico de la genética de poblaciones.

Figura 3.- Diagrama de Finetti con parábola Hardy – Weinberg de la población estudiada para el Polimorfismo del gen ATR1.



En esta figura se observa El principio de Hardy-Weinberg para los alelos: el eje horizontal muestra las frecuencias alélicas, el eje vertical muestra la frecuencia de los genotipos y los tres posibles genotipos.

En la tabla 2 se describe la distribución de genotipos y alelos del gen ATR1. Se observó una alta frecuencia del genotipo AA en ambos grupos sin diferencia estadística significativa, así como también el resto de los genotipos. La frecuencia del alelo A fue de 0.70 y 0.71 y del alelo C fue de 0.29 y 0.28 en grupo de DMT2 y DMT2 sin ND respectivamente (ver grafica 2).

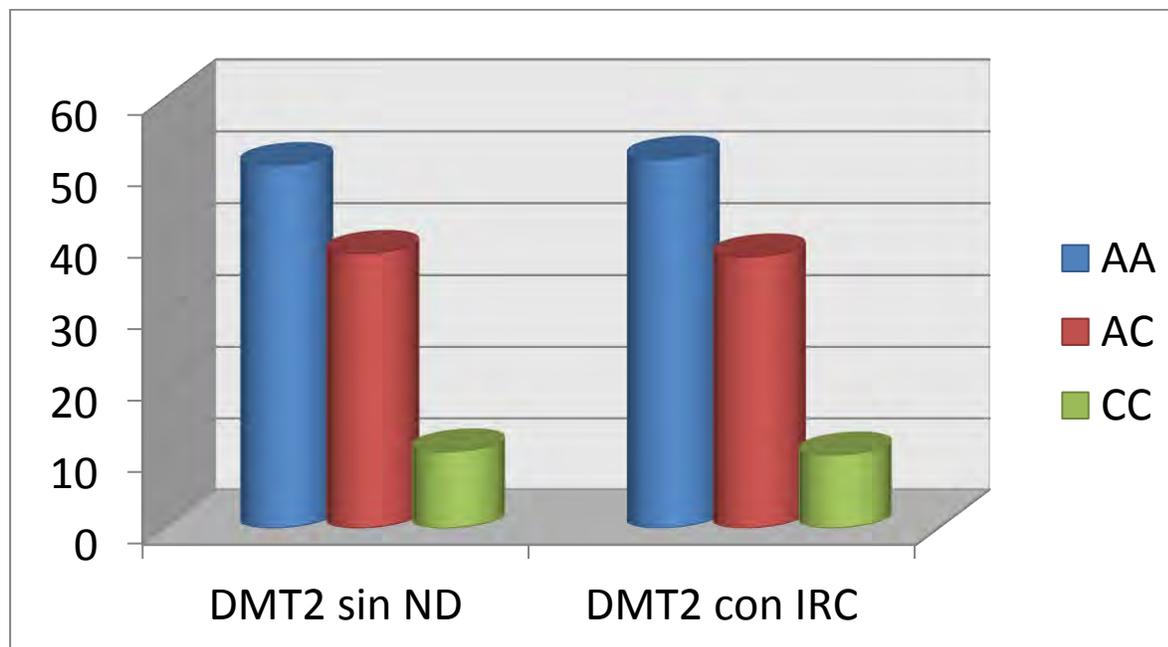
Las frecuencias genotípicas y alélicas no difirieron en ambos grupos con un total del genotipo AA 395, AC 294, CC 81, en una población total de 770.

Tabla 2.- Frecuencias genotípica y alélica de la población estudiada.

ATR1	GENOTIPO				ALELO		
	AA	AC	CC	<i>p</i>	A	C	<i>P</i>
DMT2 CON IRC n (%)	230 (51.6)	169 (37.97)	46 (10.33)	0.832	0.7067	0.2933	0.0174
DMT2 SIN ND n(%)	165 (50.7)	125 (38.46)	35 (10.77)	0.832	0.7114	0.2886	0.0107

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.

Grafica 2.- Porcentaje de la población con genotipo AA, AC y CC en grupo control y en casos.



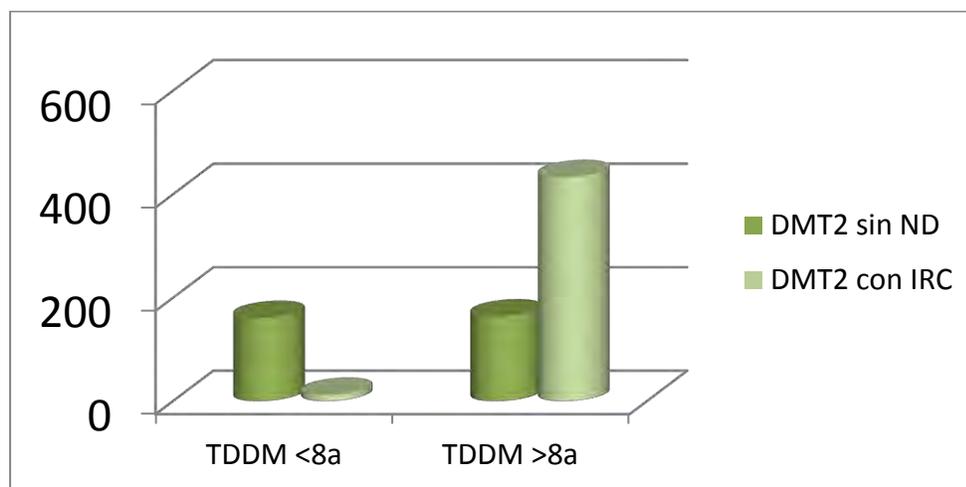
DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
 AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

Tabla 3.- Distribución de Polimorfismos de acuerdo al tiempo de diagnóstico con DMT2.

	Tiempo en años de Diagnóstico con DMT2	
	< 8	>8
<b>DMT2 sin ND</b>	161 (49.43%)	164 (50.46%)
<b>DMT2 con IRC</b>	12 (2.69)	433 (97.31)
<b>Polimorfismos</b>		
AA	88 (50.86)	307 (51.42)
AC	67 (38.73)	227 (38.02)
CC	18 (10.40)	63 (10.55)

AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

Grafica 3.- Número de pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 distribuidos en cada grupo (control y casos).



DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
TDDM: Tiempo de diagnóstico de DMT2.

La distribución de los genotipos del gen ATR1 fue aproximadamente igual porcentaje en todas las variables, con valor de  $p$  mayor de 0.05, a excepción de la variable de IMC, ICC, y tiempo de diagnóstico de DMT2 en las que hay significancia estadística, sin embargo existe el mismo promedio de estas variables en todos los tres genotipos sin denotar ninguna diferencia (Tabla 4).

Tabla 4.- Distribución de los genotipos del gen ATR1 de acuerdo a las características demográficas y clínicas de la población estudiada.

VARIABLE	Genotipo AGTR1			p value
	AA	AC	CC	
<b>Sexo</b>				
Masculino n (%)	183 (51.55)	138 (38.87)	34 (9.58)	0.724
Femenino n (%)	212 (51.08)	156 (37.59)	47 (11.33)	0.724
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	58.16 (9.72)	58.53 (9.7)	56.82 (8.68)	0.8780
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	28.72 (5.09)	29.10 (5.5)	28.94 (5.5)	0.0012
<b>Historia Familiar de DMT2 n(%)</b>	162 (49.09)	128 (38.79)	40 (12.12)	0.055
<b>Sin Historia Familiar de DMT2 n(%)</b>	68 (59.13)	41 (35.65)	6 (5.22)	0.055
<b>Historia familiar de IRC n(%)</b>	17 (60.71)	9 (32.14)	2 (7.14)	0.832
<b>Tiempo de diagnóstico DMT2 (años)</b>	16.62 (9.3)	16.60 (9.4)	15.58 (9.0)	0.0001
<b>Retinopatía n(%)</b>	197 (50.64)	151 (38.82)	41 (10.54)	0.940
<b>HAS n(%)</b>	154 (50.0)	125 (40.58)	29 (9.42)	0.042
<b>Sin HAS n(%)</b>	241 (52.28)	169 (36.66)	51 (11.06)	0.042
<b>Dislipidemia n(%)</b>	162 (53.47)	113 (37.29)	28 (9.54)	0.513
<b>Tratamiento con IECA o ARA n(%)</b>	225 (52.08)	166 (38.43)	41 (9.49)	0.109
<b>ICC (score)</b>	5.61 (2.89)	5.53 (2.88)	5.05 (2.87)	0.0001

AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

A pesar de que no se observó diferencia significativa en cuanto a los genotipos del gen ATR1 en los dos grupos de estudio, ni guardó relación con ninguna variable, se calculó la razón de momios en la cual corroboramos que no existió ninguna asociación con ningún genotipo en particular ni en promedio, y en todos con valor de  $p = \text{mayor } 0.05$ , sin significancia estadística, y con intervalo de confianza que sobrepasan la unidad, (ver tabla 5).

Por otra parte se realizó un análisis de regresión logística (ver tabla 6), en la que se observa que ambos grupos son significativamente diferentes en cuanto a la mayoría de las variables, sin embargo no existe asociación con ninguna de ellas en relación a algún genotipo del gen ATR1 para IRC en pacientes con DMT2 tanto en modelo dominante ( $2=1$ ), como en modelo recesivo ( $1=0$ ), a excepción de HAS con un OR de 1.52 siendo ambos grupos con diferencia estadística significativa.

Tabla 5.- Odds ratio del gen ATR1 para IRC en pacientes con DMT2

Gen ATR1	Odds ratio	p value	IC 95%	Chi2
<b>Riesgo del alelo C</b>				
A/C	0.968	0.7747	(0.776-1.208)	0.08
AA/AC	0.970	0.8447	(0.714-1.317)	0.04
AA/CC	0.943	0.8112	(0.582-1.528)	0.06
AA/AC+CC	0.964	0.8016	(0.724-1.283)	0.06
OR Común	0.971	0.7834		0.08
<b>Riesgo del alelo A</b>				
C/A	1.033	0.7747	(0.828-1.289)	0.08
CC/AC	1.029	0.9111	(0.626-1.690)	0.01
CC/AA	1.061	0.8112	(0.654-1.719)	0.06
AA+AC/CC	1.047	0.8469	(0.658-1.666)	0.04
OR Común	1.030	0.7834		0.08

AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

Tabla 6. Regresión logística en modelo dominante y modelo recesivo.

VARIABLE	ODDS RATIO /		IC >95%
	DOMINANTE	RECESIVO	p value
<b>Sexo</b>	0.43 (0.32-0.58)	0.43 (0.32-0.58)	0.0001
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	1.11 (1.09-1.13)	1.11 (1.09-1.13)	0.0001
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	0.86 (0.83-0.89)	0.86 (0.83-0.89)	0.0001
<b>Tiempo de diagnóstico DMT2 (años)</b>	1.28 (1.24-1.33)	1.28 (1.24-1.33)	0.0001
<b>Retinopatía n(%)</b>	0.04 (0.03-0.06)	0.04 (0.03-0.06)	0.0001
<b>HAS n(%)</b>	1.52 (1.14-2.02)	1.52 (1.14-2.03)	0.004
<b>Dislipidemia n(%)</b>	0.83 (0.62-1.12)	0.83 (0.62-1.12)	0.241

IMC: Índice de masa corporal, DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, HAS: Hipertensión arterial sistémica.

## **POLIMORFISMO I/D DEL GEN ECA**

En el periodo comprendido entre Marzo y Julio de 2016, se analizaron un total de 386 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, de los cuales 191 pacientes con IRC secundaria a ND con terapia de sustitución renal se incluyeron al grupo de los casos y 195 pacientes sin ND se incluyeron al grupo control, todos ellos atendidos en el servicio de Nefrología del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS. Las características demográficas y clínicas se muestran en la tabla 7, corresponden 169 hombres y 117 mujeres, con una media de edad de 59.9 años para los hombres y 53.9 para las mujeres (ver tabla 7 y gráfica 4), con antecedente familiar de DMT2 en el 74% de los pacientes con IRC.

Con diferencia significativa en cuanto al tiempo de diagnóstico de DMT2 mayor en el grupo con IRC con tiempo promedio 19.30 años, y de 9.22 años para el grupo de DMT2 sin ND, por lo cual se realiza una subdivisión (ver tabla 3), en la que se observa más del 94% de pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 en el grupo de los casos en comparación con el 47% de los pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 en el grupo de los controles (ver tabla 9 y Grafica 5).

Se observó que ambos grupos fueron significativamente diferentes con respecto al antecedente de sexo (más porcentaje de hombres en el grupo de los casos), Retinopatía, HAS, tratamiento con IECA o ARA, IMC, e índice de comorbilidad de Charlson, con ( $p < 0.05$ ). En cuanto al antecedente de Retinopatía la diferencia se debe a que en el grupo de los casos la gran mayoría de los pacientes (75%) ya han sido tratados con Fotocoagulación, a diferencia de los controles en los cuales es menor el porcentaje (14%) debido a que no han sido examinados con fondo de ojo en la mayoría

de los casos. Se observó un porcentaje mayor (48.7%) de pacientes con HAS en el grupo de los controles con respecto al grupo de los casos (38.2%), y a pesar de ello fueron tratados con antihipertensivos tipo IECA o ARA en menor porcentaje (40.5%) a diferencia del 67% en el grupo de los controles.

Por otro lado comentar que la media de los pacientes con IMC mayor a 30 kg/m<sup>2</sup> se observó en el grupo de los controles a diferencia del grupo de los casos.

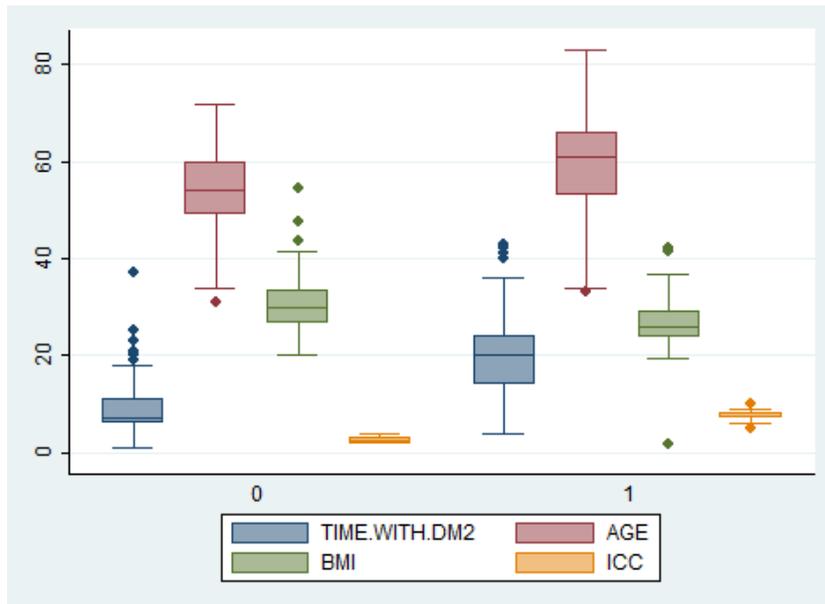
Tabla 7.- Características demográficas y clínicas de la población estudiada.

VARIABLE	CASOS DMT2 CON IRC n= 191 (%)	CONTROLES DMT2 SIN ND n= 195 (%)	P
<b>Sexo</b>			
Masculino n(%)	101 (52.88)	68 (34.87)	0.0001
Femenino n(%)	90 (47.12)	127 (65.13)	0.0001
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	59.98 (9.16)	53.90 (7.74)	0.2477
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	26.29 (4.74)	30.37 (4.98)	0.0001
<b>Historia Familiar de DMT2 n(%)</b>	142 (74.96)		0.0001
<b>Historia familiar de IRC n(%)</b>	25 (13.09)		0.0001
<b>Tiempo diagnóstico DMT2 (años)</b>	19.30 (7.70)	9.22 (5.11)	0.0001
<b>Retinopatía n(%)</b>	145 (75.32)	28 (14.36)	0.0001
<b>HAS n(%)</b>	73 (38.22)	95 (48.72)	0.03
<b>Dislipidemia n(%)</b>	83 (43.46)	76 (38.97)	0.371
<b>Tratamiento con IECA o ARA n(%)</b>	128 (67.02)	79 (40.51)	0.0001
<b>ICC (score)</b>	7.86 (0.77)	2.32 (0.56)	0.0001

IMC: Índice de masa corporal, DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, HAS: Hipertensión arterial sistémica, ICC: Índice de Comorbilidad de Charlson.

Se observó la distribución normal de las variables cuantitativas con la prueba t-student, y en las que no hubo una distribución normal se usó la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon.  $\bar{x} \pm DE$ : mediana de desviación estándar, kg/m<sup>2</sup>: kilogramo sobre metro al cuadrado.

Grafica 4.- Descripción de edad, IMC, tiempo de diagnóstico de DM e ICC en grupo de DMT2 sin ND (0), y DMT2 con IRC (1).



AGE: Edad ( $p=0.161$ ).

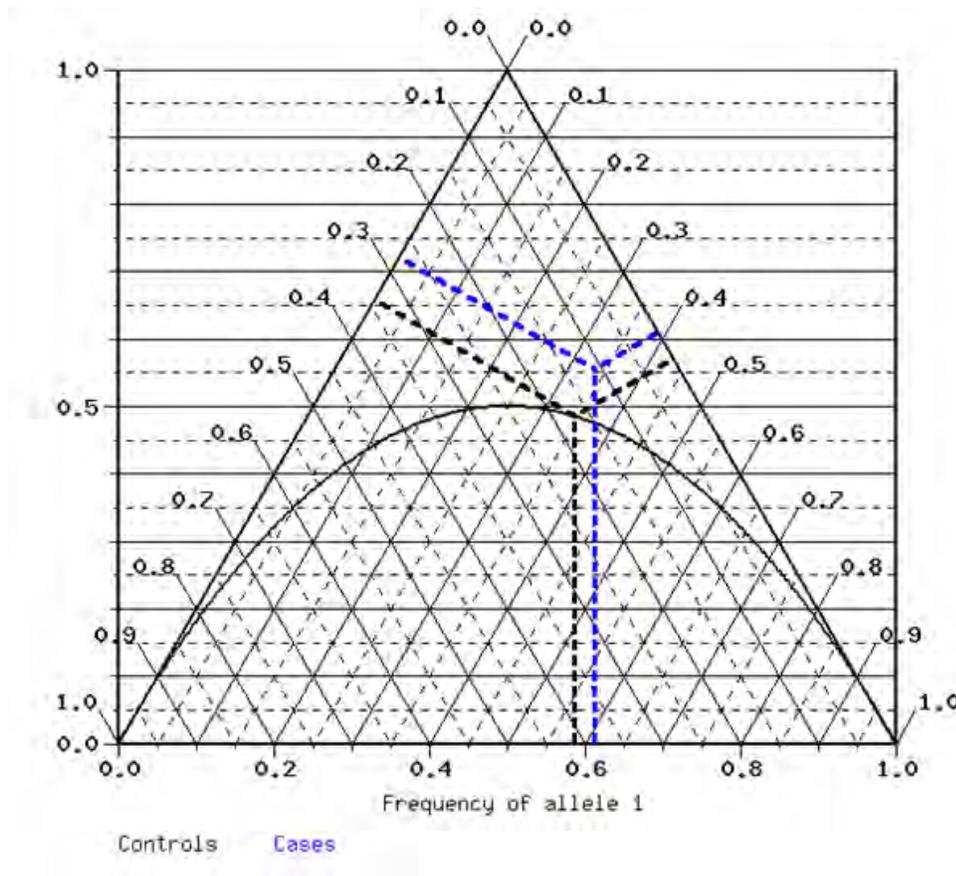
ICC: Índice de Comorbilidad de Charlson, BMI e IMC: Índice de masa corporal, TIME.WITH.DM2 tiempo de diagnóstico de Diabetes mellitus tipo 2 ( $p=0.0001$ ).

0: Pacientes con DMT2 sin ND, 1: Pacientes con DMT2 y con IRC.

En cuanto al ICC que fue más alto en el grupo de los casos era lo esperado, ya que el hecho de presentar IRC le condiciona un índice mayor, así como también el porcentaje 74% de carga genética para DMT2 en los pacientes el grupo de los casos.

Las frecuencias genotípicas observadas fueron en equilibrio de Hardy-Weinberg en los pacientes con DMT2 con IRC ( $\chi^2=5.46$ ,  $p=0.022$ ) y en los controles pacientes con DMT2 sin ND ( $\chi^2=1.26$ ,  $p=1.000$ ). (figura 4) predice que la frecuencia genotípica para el homocigoto dominante AA es  $p^2$ , la del heterocigoto Aa es  $2pq$  y la del homocigoto recesivo aa, es  $q^2$ , es una expresión de la noción de una población que está en "equilibrio genético", y es un principio básico de la genética de poblaciones.

Figura 4.- Diagrama de Finetti con parábola Hardy - Weinberg en la población estudiada con el polimorfismo I/D del gen ECA.



$\chi^2 = 0.005$ ,  $p = 1.000$

En esta figura se observa El principio de Hardy-Weinberg para los alelos: el eje horizontal muestra las frecuencias alélicas, el eje vertical muestra la frecuencia de los genotipos y los tres posibles genotipos.

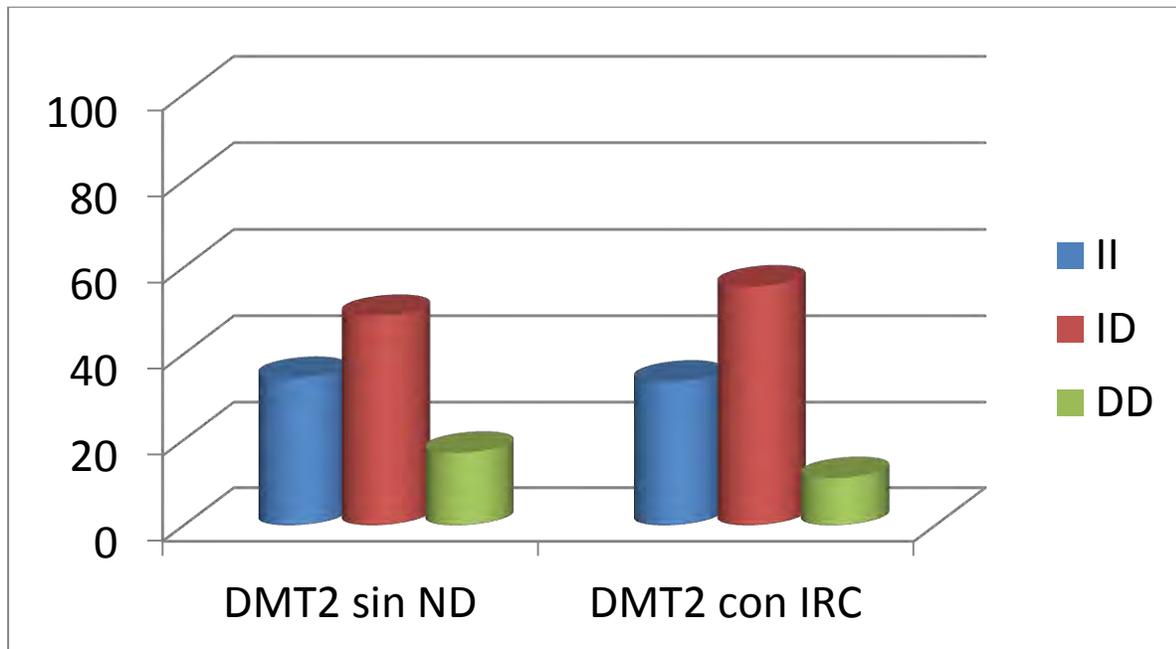
En la tabla 8 y grafica 5 se describe la distribución de genotipos y alelos del gen ECA. Se observó una alta frecuencia del genotipo ID, con mayor porcentaje el grupo de los casos (55.5%), a diferencia de 48.72%, así como también mayor porcentaje (16.92%) del genotipo DD en el grupo control a diferencia del 10.9% en el grupo de los casos, sin embargo no hay diferencia significativa en ambos grupos con  $\chi^2 = 3.2963$   $p = 0.192$ , La frecuencia de los alelo I fue de 0.61 y 0.58 y del alelo D fue de 0.38 y 0.41 en grupo de DMT2 con IRC y DMT2 sin ND respectivamente.

Tabla 8.- Frecuencias genotípica y alélica de la población estudiada.

ACE	GENOTIPO				ALELOS		
	II	ID	DD	<i>p</i>	I	D	<i>p</i>
DMT2 CON IRC	64 (33.51)	106 (55.50)	21 (10.99)	0.192	234 (0.61)	148 (0.38)	0.02
DMT2 SIN ND	67(34.36)	95 (48.72)	33 (16.92)	0.192	229 (0.58)	161 (0.41)	1.0

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
 $\chi^2 = 3.2963$

Grafica 5.- Porcentaje de la población con genotipo II, ID y DD en grupo control y en casos.



DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
 AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

En la gráfica 5 se observa claramente un aumento en el genotipo ID en el grupo de los casos, e incluso menor predominio del genotipo DD en comparación con el grupo de los controles.

Debido a la diferencia en los dos grupos en relación al tiempo de diagnóstico de DMT2 se realizó un ajuste dividiendo en dos grupos: uno a todos los pacientes con tiempo de diagnóstico de 5-8 años y otro grupo con tiempo de diagnóstico de DMT2 mayor a 8 años. Se observó una reducción de la población del 52.3% en el grupo de DMT2 sin ND a diferencia del 5.23 en el grupo de DMT2 con IRC, así como también discreto aumento en el genotipo ID y DD en el grupo con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 (ver tabla 9 y gráfica 6).

Por tanto se realizó nueva distribución de los genotipos en el grupo con más de 8 años de diagnóstico, (ver tabla 10 y grafica 7), en la que se describe la distribución de genotipos del gen ECA, en donde no se observaron grandes diferencias con respecto a la población total, se observó una alta frecuencia del genotipo ID, con mayor porcentaje el grupo de los casos (55.8%), a diferencia de 48.42%, así como también mayor porcentaje (22.11%) del genotipo DD en el grupo control a diferencia del 11.05% en el grupo de los casos, y con diferencia estadística significativa en ambos grupos con  $\chi^2 = 6.027$  y  $p = 0.049$ , (ver tabla 10 y grafica 7).

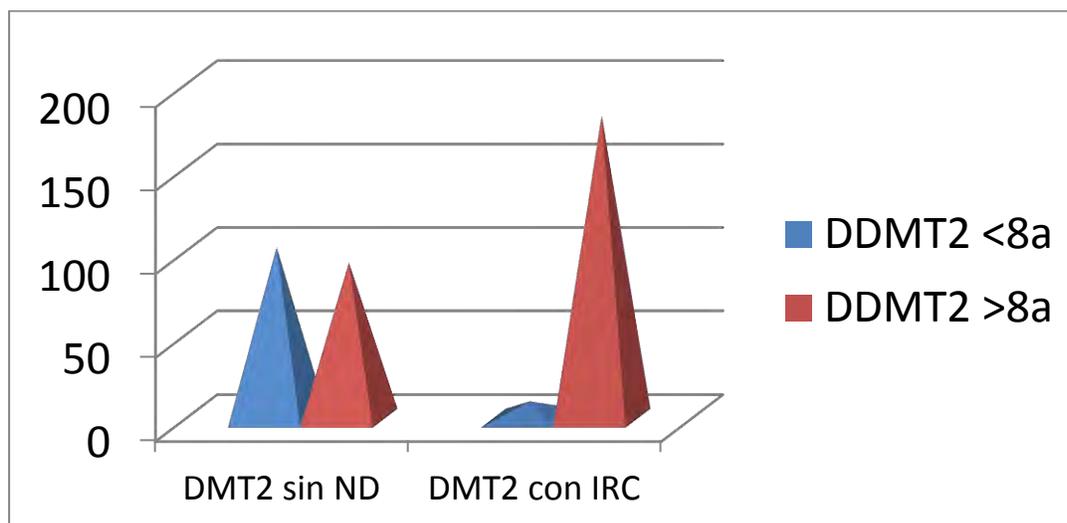
Tabla 9.- Distribución de Polimorfismos de acuerdo al tiempo de diagnóstico con DMT2.

	Tiempo en años de Diagnostico con DMT2	
	< 8	>8
<b>DMT2 sin ND n(%)</b>	102 (52.30)	93 (47.69)
<b>DMT2 con IRC n(%)</b>	10 (5.23)	181 (94.76)
<b>Polimorfismos</b>		
II n(%)	43 (38.39)	88 (32.11)
ID n(%)	56 (50.00)	145 (52.91)
DD n(%)	13 (11.60)	41 (14.96)

$\chi^2 = 1.6931$ ,  $p = 0.429$

AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

Grafica 6.- Número de pacientes con más de 8 años de diagnóstico de DMT2 distribuidos en cada grupo (control y casos).



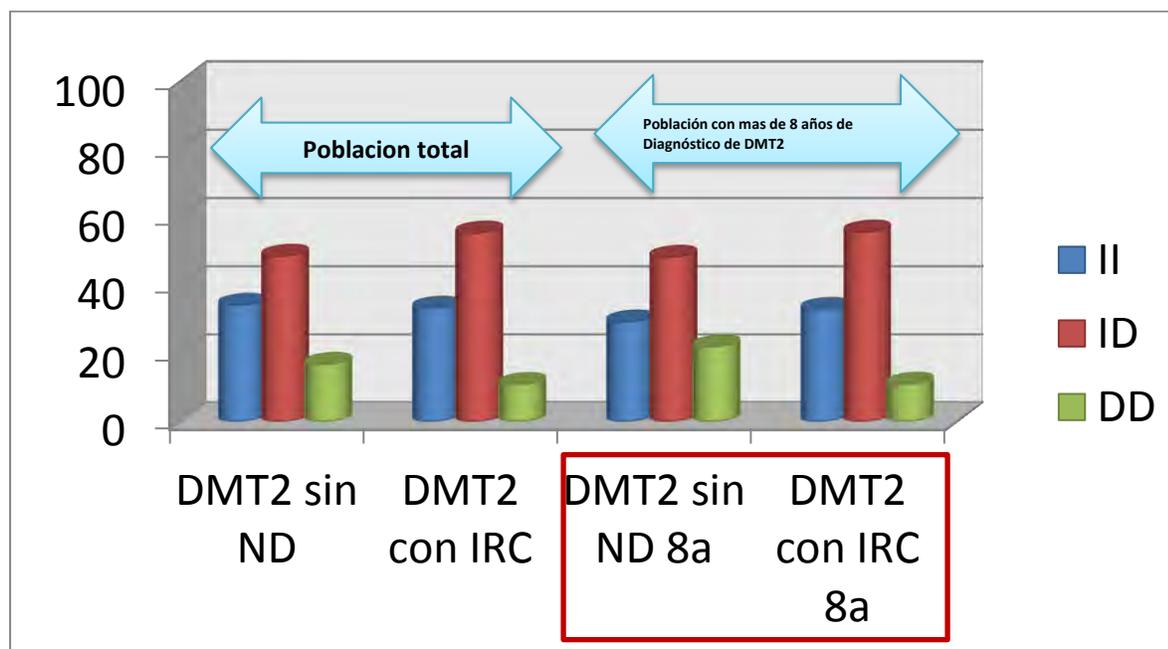
DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
TDDM: Tiempo de diagnóstico de DMT2.

Tabla 10. Distribución del número y porcentaje de los genotipos de acuerdo al grupo de casos o controles, Sexo y antecedente de HAS.

VARIABLE	Genotipo ECA			p value
	II	ID	DD	
<b>DMT2 sin ND n(%)</b>	28 (29.47)	46 (48.42)	21 (22.11)	0.049*
<b>DMT2 con IRC n(%)</b>	60 (33.15)	101 (55.80)	20 (11.05)	0.049*
<b>Sexo</b>				
Masculino n(%)	45 (33.09)	66 (48.53)	25 (18.38)	0.174**
Femenino n(%)	43 (30.71)	81 (57.86)	16 (11.43)	0.174**
<b>HAS n(%)</b>	36 (31.86)	61 (53.98)	16 (14.16)	0.960***
<b>Sin HAS n(%)</b>	52 (31.90)	86 (52.76)	25 (15.34)	0.960***

$\chi^2 = 6.0271^*$ ,  $3.4944^{**}$ ,  $\chi^2 = 0.08^{***}$

Grafica 7.- Porcentaje de la población con genotipo II, ID y DD en grupo control y en casos, tanto en toda la población y en otro grupo con más de 8 años de diagnóstico de DMT2.



$\chi^2 = 6.0271^*$ ,  $3.4944^{**}$ ,  $\chi^2 = 0.08^{***}$

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética.  
TDDM: Tiempo de diagnóstico de DMT2.

Tabla 11. Distribución de los genotipos de acuerdo al sexo en ambos grupos (control vs casos)

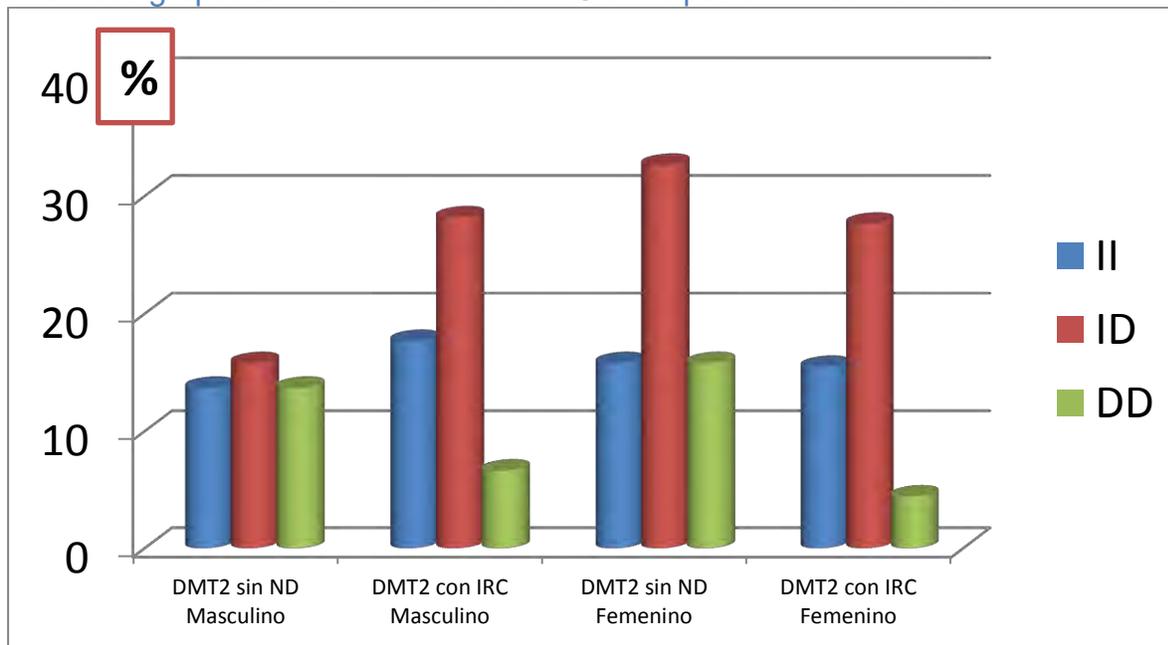
GENOTIPOS	DMT2 sin ND		DMT2 con IRC	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
<b>II</b> n (%)	13 (13.68)	15 (15.78)	32 (17.67)	28 (15.46)
<b>ID</b> n (%)	15 (15.78)	31 (32.63)	51 (28.17)	50 (27.62)
<b>DD</b> n (%)	13 (13.68)	8 (8.42)	12 (6.62)	8 (4.41)

II: Homocigoto dominante, ID: Heterocigoto, DD: Homocigoto recesivo.

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética

Se realizó una comparación de acuerdo al sexo de la población entre los dos grupos DMT2 sin ND vs DMT2 con IRC, en donde se muestra nuevamente incremento en el porcentaje del genotipo ID solo en el sexo masculino del 28.17% en el grupo de los casos a diferencia del 15.78% en el grupo control, así como también se observa una disminución en el porcentaje del genotipo DD en el grupo de DMT2 en ambos sexos respecto al grupo control (ver tabla 11 y grafica 8).

Grafica 8. Descripción del porcentaje de los Genotipos del gen ECA de acuerdo al sexo en ambos grupos DMT2 sin ND o con IRC de la población estudiada.



II: Homocigoto dominante, ID: Heterocigoto, DD: Homocigoto recesivo.  
 DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, IRC: Insuficiencia Renal Crónica, ND: Nefropatía Diabética

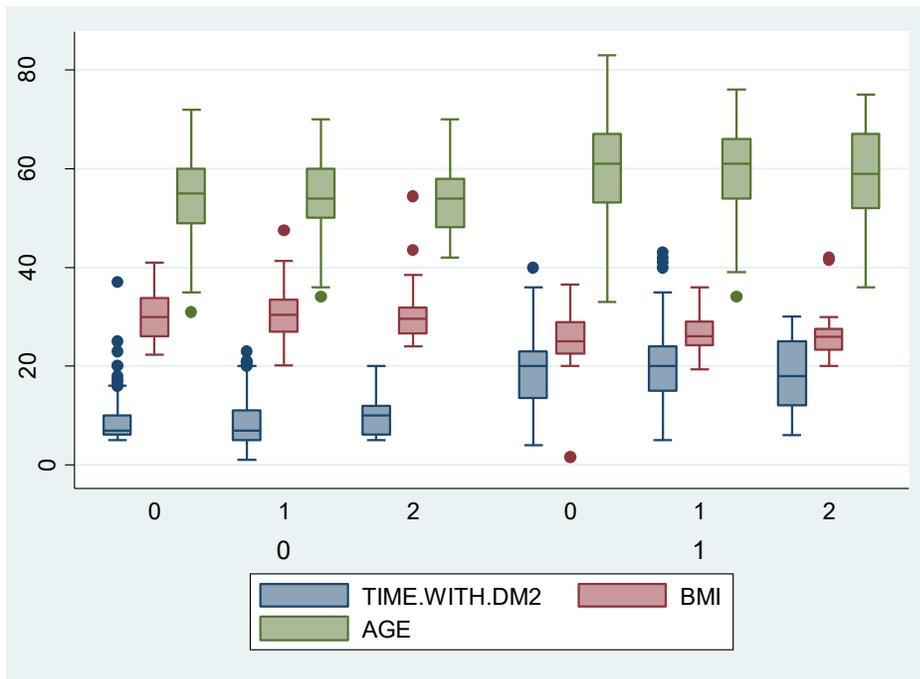
La distribución de los genotipos del gen ECA fue aproximadamente igual porcentaje en todas las variables, con valor de  $p$  mayor de 0.05, a excepción de la variable de IMC, ICC, y tiempo de diagnóstico de DMT2 en las que hay significancia estadística, sin embargo existe el mismo promedio de estas variables en todos los tres genotipos sin denotar ninguna diferencia. En relación al sexo se observó un porcentaje mayor (17.75%) en el sexo masculino a diferencia del 11.06% en el sexo femenino (ver Tabla 12 y gráfica 9).

Tabla 12.- Características demográficas y clínicas de la población estudiada según el polimorfismo ID del ECA.

VARIABLE	Genotipo ECA			p value
	II	ID	DD	
<b>Sexo</b>				
Masculino	56 (33.14)	83 (49.11)	30 (17.75)	0.165
Femenino	75 (34.56)	118 (54.38)	24 (11.06)	0.165
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	57.26 (9.88)	56.95 (8.48)	55.8 (8.6)	0.9578
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	28.29 (5.55)	28.76 (4.71)	29.5 (6.3)	0.0001
<b>Historia Familiar de DMT2 n(%)</b>	50 (32.1)	78 (54.93)	14 (9.86)	0.560
<b>Sin Historia familiar de DMT2 n(%)</b>	14 (28.57)	28 (57.14)	7 (14.29)	0.560
<b>Historia familiar de IRC n(%)</b>	7 (28.0)	16 (64.0)	2 (8.0)	0.384
<b>Tiempo de diagnóstico DMT2(años)</b>	13.94 (8.29)	14.64 (8.54)	13.2 (6.8)	0.003
<b>Retinopatía n(%)</b>	53 (30.64)	99 (57.23)	21 (12.14)	0.170
<b>HAS n(%)</b>	61 (36.31)	86 (51.19)	21 (12.50)	0.604
<b>Sin HAS n(%)</b>	70 (32.11)	115 (52.75)	33 (15.14)	0.604
<b>Dislipidemia n(%)</b>	45 (28.30)	89 (55.97)	25 (15.72)	0.142
<b>Tratamiento con IECA o ARA n(%)</b>	66 (31.88)	112 (54.11)	29 (14.01)	0.635
<b>ICC (score)</b>	5.09 (2.89)	5.20 (2.83)	4.48 (2.7)	0.0001

II: Homocigoto dominante, ID: Heterocigoto, DD: Homocigoto recesivo.

Grafica 9.- Distribución de los genotipos del gen ECA de acuerdo al tiempo de diagnóstico de DMT2, IMC, y edad en grupo control y de los casos de la población estudiada.



0: Genotipo II, 1: Genotipo ID, 2: Genotipo DD  
 TIME.WITH.DM2: Tiempo de diagnóstico de DMT2, BMI: Índice de masa corporal, AGE: edad  
 0: DMT2 sin ND, 1: DMT2 con IRC

A pesar de que no se observó diferencia significativa en cuanto a los genotipos del gen ECA en los dos grupos de estudio, ni guardó relación con ninguna variable, se calculó la razón de momios en la cual se observa asociación con alelo I y genotipo ID con OR 1.753, sin embargo sin diferencia estadística significativa con valor de  $p = \text{mayor } 0.05$ , y con intervalo de confianza que sobrepasan la unidad, (ver tabla 13). Por otra parte se realizó un análisis de regresión logística (ver tabla 14), en la que se observa que ambos

grupos son significativamente diferentes en cuanto a la mayoría de las variables, sin embargo no existe asociación con ninguna de ellas en relación a algún genotipo del gen

ECA para IRC en pacientes con DMT2 tanto en modelo dominante (2=1), como en modelo recesivo (1=0), a excepción de HAS con un OR de 1.52 siendo ambos grupos con diferencia estadística significativa, en el que también se observó mayor presencia de genotipo ID.

Tabla 13.- Odds ratio del gen ATR1 para IRC en pacientes con DMT2

Gen ECA	Odds ratio	p value	IC 95%	Chi2
<b>Riesgo del alelo</b>				
<b>D</b>				
I/D	0.900	0.4716	(0.674-1.200)	0.52
II/ID	1.168	0.4892	(0.752-1.815)	0.48
II/DD	0.666	0.2162	(0.349-1.270)	1.53
II/ID+DD	1.039	0.8598	(0.681-1.583)	0.03
OR Común	0.861	0.4518		0.57
<b>Riesgo del alelo I</b>				
D/I	1.112	0.4716	(0.833-1.483)	0.52
DD/ID	1.753	0.0707	(0.950-3.237)	3.26
DD/II	1.501	0.2162	(0.787-2.862)	1.53
II+ID/DD	1.649	0.0932	(0.916-2.969)	2.82
OR Común	1.169	0.4518		0.57

AA: Homocigoto dominante, AC: Heterocigoto, CC: Homocigoto recesivo.

Tabla 14. Regresión logística en modelo dominante y modelo recesivo.

VARIABLE	ODDS RATIO /		IC >95%
	MODELO DOMINANTE	MODELO RECESIVO	p value
<b>Sexo M/F</b>	0.47 (0.31-0.71)	0.47 (0.31-0.71)	0.0001
<b>Edad (años) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	1.08 (1.06-1.11)	1.08 (1.06-1.11)	0.0001
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>) <math>\bar{x} \pm DE</math></b>	0.82 (0.77-0.87)	0.82 (0.77-0.87)	0.0001
<b>Tiempo de diagnóstico DMT2 (años)</b>	1.26 (1.21-1.32)	1.26 (1.21-1.32)	0.0001
<b>Retinopatía n(%)</b>	0.052 (0.03-0.87)	0.052 (0.03-0.87)	0.0001
<b>HAS n(%)</b>	1.53 (1.02-2.30)	1.53 (1.02-2.30)	0.038
<b>Dislipidemia n(%)</b>	0.83 (0.55-1.24)	0.83 (0.55-1.24)	0.371

IMC: Índice de masa corporal, DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2, HAS: Hipertensión arterial sistémica.

## X. DISCUSIÓN

En este estudio evaluamos el polimorfismo A/C del gen ATIR y el polimorfismo I/D del gen de la ECA en pacientes con IRC secundaria a nefropatía diabética y pacientes con DT2 sin evidencia clínica ni bioquímica de nefropatía. La nefropatía diabética es una enfermedad poligénica y multifactorial. La ND es una de las complicaciones microvasculares crónicas y graves más comunes de la DM y una de las causas más importantes de ERC, ya que del 20-40% en pacientes con DMT2 conduce a IRC.<sup>21</sup>

De los componentes del SRA, el polimorfismo A/C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA son algunos de los más importantes candidatos. Sin embargo, la asociación del polimorfismo I/D del gen de la ECA con la nefropatía diabética es controvertida. Algunos estudios han fundamentado una asociación<sup>34,36,37,39,43,44</sup> y otros no<sup>35,45,51</sup>. Las discrepancias en los resultados de los diversos estudios se atribuyen a varias razones, como el diseño del estudio, la duración de la diabetes, la selección de los pacientes y la variación étnica.

Es por ello que en el presente estudio se comparó a un grupo de población con DMT2 sin ND (grupo control) *versus* otro grupo de población con DMT2 con IRC, que es la complicación más grave de la ND, y de esta manera quitar el sesgo que implicaban los pacientes con nefropatía establecida en quienes se revertía la albuminuria y no evolucionaban a IRC. Es el primer estudio que compara dos extremos de pacientes con DMT2 en la población Mexicana.

La población en este estudio fue de predominio sexo masculino un 30% mas que del sexo femenino aproximadamente, con una media de edad de 50 años a los 60 años, se observó un alto porcentaje de antecedente familiar de DMT2 y retinopatía diabética en más de 70%, a diferencia de otros estudios.<sup>45,56,58</sup>

En el presente estudio la prevalencia del genotipo AA, AC, y CC del gen ATR1 fue del 50, 38 y 10 % respectivamente de manera muy similar en ambos grupos, así como también la presencia del alelo A y el alelo C fue de 0.71 y 0.28, similar a lo reportado en la población general<sup>45,54</sup>, aunque hay que recordar que su porcentaje es muy variable en las distintas etnias.

En este estudio no hubo asociación del genotipo CC del gen ATR1 con IRC en la población con DMT2, como se ha visto en población caucásica,<sup>45,59</sup> además en un análisis de regresión logística multivariado tanto en modelo dominante como recesivo se observó asociación solo con Hipertensión arterial sistémica con OR 1.52, estadísticamente significativo, a pesar de que el porcentaje del genotipo CC fue menor en los pacientes con HAS vs los pacientes sin HAS, lo cual coincide con lo documentado en población caucásica.<sup>59</sup>

Estudios previos han demostrado que el polimorfismo I/D se asocia a un incremento del riesgo de desarrollar enfermedad coronaria, HAS, DMT2 y nefropatía

diabética<sup>39,54,57,58,59,60</sup>, Sin embargo, los resultados son discordantes, pues esto no ha podido confirmarse en otros estudios<sup>45,51</sup>.

La prevalencia del genotipo II, ID, y DD del gen ECA fue del 34, 48 y 16 % respectivamente, así como también la presencia del alelo I y el alelo D fue de 0.61 y 0.38, similar a lo reportado en la población general<sup>40,45</sup>, e incluso en población Mexicana en cuanto a lo reportado por Ortega y Pierres en el estado de Michoacán México reportó 28, 53, y 18 % del genotipo II, ID, DD respectivamente,<sup>39</sup> aunque hay que recordar que su porcentaje es muy variable en las distintas etnias, como en la población caucásica.<sup>43,45,60</sup> Además se observó un prevalencia menor porcentaje del genotipo DD (10.9%) en los pacientes con DMT2 y un porcentaje mayor del genotipo ID (55.5%) en los pacientes del grupo de DMT2 con IRC, a expensas del sexo masculino contrario a lo reportado por Palomo y cols, quienes observaron asociación del genotipo DD ligado al sexo femenino para progresar a ERC en pacientes con ND establecida, en nuestro estudio no se observó la relación del genotipo DD con el sexo femenino, siendo incluso mayor en el grupo control que en los casos, sin asociarse con progresión a IRC. Por tanto no hubo asociación del polimorfismo I/D del gen ECA para progresión a IRC de los pacientes con IRC con DMT2, como ha se ha visto en población caucásica,<sup>45,51,52</sup> a diferencia de lo reportado en población asiática<sup>55,56,57</sup> incluso en población mexicana por Ortega-Pierres quien reporto asociación del Genotipo DD para ND, para niveles séricos elevados de ECA, e Hipertensión arterial sistémica<sup>39</sup>.

En el análisis de regresión logística multivariado tanto en modelo dominante como recesivo se observó asociación solo con Hipertensión arterial sistémica con OR 1.52,

estadísticamente significativo, a pesar de que el porcentaje del genotipo DD fue menor en los pacientes con HAS vs los pacientes sin HAS, lo cual coincide con lo documentado en población caucásica y como en población italiana donde no se encontraron diferencias en las distribuciones de las frecuencias genotípicas polimorfismo I/D del ACE en relación con las enfermedades cardiovasculares.<sup>59</sup>

Se han planteado algunas hipótesis para explicar el o los mecanismos involucrados en el desarrollo de la ND e HAS en los pacientes con el genotipo DD. Una posibilidad es el origen étnico. Otra posibilidad es el papel que pueda tener la ECA. Los pacientes del presente estudio, se observó asociación con HAS, y no se descarta mayores concentraciones séricas de ECA. La angiotensina II generada sistémica y localmente activa un amplio espectro de señales que responden vía el ARA1 y que median acciones fisiológicas como el control de la presión arterial y el equilibrio hidrosalino, así como acciones patológicas en células cardiovasculares, renales y otros tipos de células con potentes acciones profibróticas, protrombóticas y proinflamatorias.

Otros mecanismos multifactoriales están involucrados en el inicio y/o progresión de la nefropatía diabética. La hiperglucemia es uno de los más importantes. Sin embargo, mecanismos independientes de la glucemia también contribuyen al daño renal; entre ellos destacan la duración de la diabetes<sup>39</sup>, la hipertensión<sup>40</sup>, la dislipemia<sup>41</sup> y la obesidad<sup>42</sup>. Además, los análisis uni y multivariado demostraron que la herencia de DM2

en los padres y hermanos de los individuos con enfermedad renal crónica son factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad renal.

Por un lado, estudios transversales comunican que el polimorfismo I/D del gen de la ECA y del gen ATR1 se asocia con el desarrollo de hipertensión y Nefropatía diabética<sup>59</sup>, pero estudios epidemiológicos no han podido demostrar esta asociación; es el caso del realizado en población española, con seguimiento a dos años en donde no se asoció las variantes polimórficas del sistema renina angiotensina con la progresión a de la ERC, sino más bien cobraron mayor importancia factores nutricionales, y control metabólico.<sup>45</sup>

## **XI. CONCLUSIÓN**

La prevalencia del polimorfismo A1166C del gen AT1R en pacientes de nuestro medio con IRC secundario a Nefropatía Diabética fue de 51.5% para el Genotipo AA, 37.97% para el genotipo AC y 10.33% para el genotipo CC, muy similar al del grupo de DMT2 sin ND con 50.7%, 38.46% y 10.77% respectivamente. La prevalencia del polimorfismo del gen I/D ECA en pacientes de nuestro medio con IRC secundario a Nefropatía Diabética fue de 33.51% para el genotipo II, 55.50% para el genotipo ID, y 10.99% para el genotipo DD, a diferencia del grupo con DMT2 sin ND con 34.36%, 48.72% y 16.92% respectivamente.

El polimorfismo A1166C del gen ATR1 y el polimorfismo I/D del gen ECA no se asoció con Insuficiencia Renal Crónica en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, no están relacionados con la presencia de enfermedades cardiovasculares y no se demostró riesgo para Insuficiencia renal crónica, por lo tanto no pueden ser utilizados como marcadores de riesgo en pacientes con DT2.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011; 378:31–40.
2. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-31.
3. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
4. Van de Kaa DJ. Europe's Second Demographic Transition. *Population Bulletin*, 42 (1), Washington, The Population Reference Bureau 1987.
5. Escobedo-de la Peña J, Santos-Burgoa C. La diabetes mellitus y la transición de la atención a la salud. *Salud Publica Mex*. 1995; 37:37-46.
6. Stern MP, González C, Mitchell BD, et al. Genetic and environmental determinants of type II diabetes in Mexico City and San Antonio. *Diabetes*. 1992; 41:484-492.
7. Vázquez-Robles M, Romero-Romero E, Escandón-Romero C, et al. Prevalencia de diabetes mellitus no insulino dependiente y factores de riesgo asociados en una población de México, D.F. *Gac Med Mex*. 1993; 129:191-199.
8. Posadas-Romero C, Yamamoto-Kimura L, Lerman-Garber I, et al. The prevalence of NIDDM and associated coronary risk factors in Mexico City. *Diabetes Care*. 1994; 17:1441-1448.

9. Escobedo-de la Peña J, Islas S, Lifshitz-Guinzberg A, et al. Higher prevalence of diabetes in hypertensive subjects with upper body fat distribution. *Rev Invest Clin.* 1998; 50:5-12.
10. Arredondo A et al. Costs, quality of care and financial consequences from diabetes in México: Implications to the Health System and to Patients. En: *Health Care Collection*, Nova Sci Publishers, 2012, en prensa.
11. Obrador G., Garcia G., Prevalence of chronic kidney disease in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) México and comparison with KEEP US, *Kidney International* (2010) 77 (Suppl 116), S2–S8
12. National Kidney Foundation. K/DOQI Kidney Disease Outcome Quality Initiative. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(Suppl 1):S1-S266.
13. Levey AS, Atkins R, Coresh J, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives — a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int.* 2007;72:247-259.
14. National Collaborating Centre for Chronic Conditions. *Chronic kidney disease: National clinical guideline for early identification and management in adults in primary and secondary care.* London: National Institute for Health and Clinical Excellence; September 2008. Clinical guideline 73.
15. Méndez DA, Méndez BF, Tapia YT, et al. Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Dial Traspl.* 2010;31(1):7-11.
16. Lemes PF, Dos Santos PR, Ferrari GS, et al. Knowledge of diabetes mellitus: Does gender make a difference? *Osong Public Health Res Perspect* 2014; 5: 199–203.

17. Fassett RG, Robertson IK, Mace R, et al. Palliative care in end-stage kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2011; 16: 4–12.
18. Grace BS, Clayton P, McDonald SP. Increases in renal replacement therapy in Australia and New Zealand: Understanding trends in diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2012; 17: 76–84.
19. Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Epidemiological approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med.* 1987;317:1390-8.
20. Nelson RG, Knowler WC, Bennet PH. Natural history of diabetic nephropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complicat.* 1991;5:76-8.
21. Herrera-acosta J. Hipertensión arterial y nefropatía diabética. La terapéutica basada en evidencia. *Arch. Cardiol. Med.* 2003; 73: S66–9.
22. Larking RG, Dunlop ME. The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 1992;35:499-504.
23. Schrier RW, Estacio RO, Esler A. Effects of aggressive blood pressure control in normotensive type 2 diabetic patients on albuminuria, retinopathy and strokes. *Kidney Int.* 2002; 61:1086-97.
24. Krolewski AS, Quinn M, Angelico MC. Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. *Diabetologia.* 1996;39:940-5.
25. Krolewski AS, Canessa H, Warram JH, et al. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1988;318:140-5.
26. Mogensen CE, Chachati A, Christensen CK, et al: Microalbuminuria: An early marker of renal involvement in diabetes. *Uremia Invest* 9:85-95, 1985.
27. Standards of medical care in diabetes—2006. *Diabetes Care* 29:S4-S42, 2006

28. Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, et al: Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 27:S79-S83, 2004 (suppl 1).
29. Microvascular and acute complications in IDDM patients: The EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 37:278-285, 1994
30. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352:837-853, 1998
31. Carey MR, Siagy MH. The intrarenal renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:274-81.
32. B.A. Sayed-Tabatabaei, B.A. Oostra, A. Isaacs, et al. ACE Polymorphisms. *Circulation Research* May 12, 2006
33. Erman A, Van Kyk DJ, Chen-Gal B. Angiotensin converting enzyme activity in the serum, lung and kidney of diabetic rats. *Eur J Clin Invest.* 1993;23:615-20.
34. Hubacek JA, Viklicky O, Dlouha D *et al.* The FTO gene polymorphism is associated with end-stage renal disease: Two large independent case-control studies in a general population. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012; 27: 1030–5.
35. Aucellaa F, Margaglioneb M, Grandoneb E. Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene in End-Stage Renal Failure Patients. *Nephron* 2000;85:54–59
36. Cheon CH, Rae S, Seok B, Hee T. Polymorphism of the ACE Gene in Dialysis Patients: Overexpression of DD Genotype in Type 2 Diabetic End-Stage Renal Failure Patients. *Yonsei Medical Journal* 2005. Vol. 46, No. 6, pp. 779 – 787

37. Deepak N, Parchwani, M. G. Kesari, Digisha D. Patel. Influence of genetic variability at the ACE locus in intron 16 on Diabetic Nephropathy in T1DM patients. *Indian J Physiol Pharmacol* 2014; 58(4) : 327–337
38. Martinez-Marignac VL, Valladares A, Cameron E *et al.* Admixture in Mexico City: Implications for admixture mapping of Type 2 diabetes genetic risk factors. *Hum. Genet.* 2007; 120: 807–19.
39. Ortega-Pierres LE, Gómez García A, Rodríguez-Ayala E, Figueroa-Núñez B, Farias-Rodríguez VM, Higareda-Mendoza AE, Pardo-Galván MA, Cortés-García JC, López-Meza JE, Alvarez-Aguilar C. Angiotensin-1 converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in a Mexican population with diabetic nephropathy. *Med Clin (Barc)*. 2007 Jun 2;129(1):6-10.
40. Palomo-Piñón S, Gutiérrez-Rodríguez ME, Díaz-Flores M, Sánchez-Barrera R, Valladares-Salgado A, Utrera-Barillas D, Durán-Reyes G, Galván-Duarte RE, Trinidad-Ramos P, Cruz M. DD genotype of angiotensin-converting enzyme in type 2 diabetes mellitus with renal disease in Mexican Mestizos. *Nephrology (Carlton)*. 2009 Apr;14(2):235-9
41. Rogers JL, Mitchell AR, Maric C, *et al.* Effect of sex hormones on renal estrogen and angiotensin type 1 receptors in female and male rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2007; 292: R794–99.
42. Kim S, Iwao W. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 11–34.
43. Yang CH, Biao T. Relationship between the angiotensinogen A1166C gene polymorphism and the risk of diabetes mellitus developing into diabetic nephropathy. *Journal of the Renin-Angiotensin- Aldosterone System* 2015, 1–5,

44. Buraczynska M, Ksiazek P, Drop A, Zaluska W. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* (2006) 21: 979–983
45. Calzada P, Alía P, González MT. Asociación de diversos polimorfismos de genes del sistema renina angiotensina y la progresión de la nefropatía en diabéticos de tipo II. *Genes del sistema renina-angiotensina y nefropatía. Química Clínica* 2005; 24 (3) 149-157
46. Zohreh Rahimi 1, ACE insertion/deletion (I/D) polymorphism and diabetic nephropathy. *J Nephropathology*. 2012; 1(3): 143-151
47. Hemmelgarn, B. et al. Adapting the Charlson comorbidity index for use in patients with ESRD. *American Journal of Kidney Diseases*. 42, 125-132. 2003.
48. Fried, L. et al. Charlson Comorbidity Index as a Predictor of Outcomes in Incident peritoneal dialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*. 37, 337-342. 2001.
49. Tamay de Dios L., Ibarra C., Velasquillo C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en Discapacidad*. 2(2): 70-78. <http://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132d.pdf>
50. Applied Biosystem by Life Technologies. (2014). TaqMan® SNP Genotyping Assays User Guide.
51. Ringel J, Beige J, Kunz R, et al. Genetic variants of the renin-angiotensin system, diabetic nephropathy and hypertension *Diabetologia* (1997) 40: 193–199.

52. Ilić M, Soldatović I, et al. Association of reninangiotensin system genes polymorphism with progression of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71: 627–633
53. Currie D, McKnight AJ, Patterson CC, et al. Investigation of *ACE*, *ACE2* and *AGTR1* genes for association with nephropathy in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2010; 27: 1188–1194.
54. Chen H, Wei F, Wang L, Wang Z, Meng J, Jia L, Sun G, Zhang R, Li B, Yu H, Pang H, Bi X, Dong H, Jiang A, Wang L. MTHFR gene C677T polymorphism and type 2 diabetic nephropathy in Asian populations: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015.
55. Xiong X, Lin XK, Xiao X, Qin DP, Zhou DY, Hu JG, Liu Y, Zhong XS. Association between MTHFR C677T polymorphism and diabetic nephropathy in the Chinese population: an updated meta-analysis and review. *Nephrology (Carlton)*. 2015
56. An L, Jiang H, Tang RN. The ACACB gene rs2268388 polymorphism is associated with nephropathy in Caucasian patients with diabetes: a meta-analysis. *Ren Fail*. 2015
57. Ma H, Yu C, Wang R. Association of ACE polymorphism and diabetic nephropathy susceptibility. *Int J Clin Exp Med*. 2015
58. Baz R, Settin A, Ismaeel A et al. MTHFR C677T, A1298C and ACE I/D polymorphisms as risk factors for diabetic nephropathy among type 2 diabetic Patients *Journal of the Renin-Angiotensin- Aldosterone System* 13(4) 472– 477 © The Author(s) 2012.

59. Ittersum F, Man A, Thijssen S, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and complications of insulin-dependent diabetes mellitus, *Nephrol Dial Transplant* (2000) 15: 1000-1007.
60. Tripathi G, Dharmani P, Khan F, et al. High prevalence of ACE DD genotype among north Indian end stage renal disease patients. *BMC Nephrology* 2006, 7:15

## ANEXOS I

### Anexo I Instrumento de Recolección de Datos.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA"  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**CUESTIONARIO HOJA DE REGISTRO DE DATOS**

FECHA \_\_\_\_\_ FOLIO: \_\_\_\_\_

#### I. FICHA DE IDENTIFICACIÓN

1. Nombre \_\_\_\_\_ 2. NSS \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

2. ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES DE DIABETES MELLITUS: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

3. ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES DE INSUFICIENCIA RENAL CRONICA SECUNDARIO A DIABETES MELLITUS 2: SI \_\_\_ NO \_\_\_

4. DIAGNOSTICO DE DIABETES MELLITUS DE ACUERDO A GUIAS ADA SIN NEFROPATIA DIABETICA: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

Glucosa en ayuno: \_\_\_\_\_ mg/dl Hb Glucosilada: \_\_\_\_\_ %

5. DIAGNOSTICO DE IRC EN TERAPIA DE SUSTITUCION RENAL (HD O DP) SECUNDARIA A NEFROPATIA DIABETICA: SI \_\_\_ NO \_\_\_

6. TIEMPO EN AÑOS DE DIAGNOSTICO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2: \_\_\_\_\_

Complicaciones de Diabetes: Retinopatía: SI \_\_\_ NO \_\_\_ Neuropatía: SI \_\_\_ NO \_\_\_ Gastropatía: SI \_\_\_ NO \_\_\_ Cardiopatía: Si \_\_\_ NO \_\_\_

7. DIAGNOSTICO DE HIPERTENSION ARTERIAL TA MAYOR A 140-90MMHg O EN TRATAMIENTO: SI \_\_\_ NO \_\_\_ TA \_\_\_\_\_

8. TRATAMIENTO CON IECA O ARA: SI \_\_\_ NO \_\_\_\_\_ Fármaco y dosis: \_\_\_\_\_

9. TIEMPO DE DIAGNOSTICO DE HIPERTENSION ARTERIAL SISTEMICA: \_\_\_\_\_ AÑOS

10. TRATAMIENTO CON DIETA Y EJERCICIO: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

11. Hipertrigliceridemia TG > 150MG/DL: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

12- Hipercolesterolemia CT mayor a 200mg/dl: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

13. IMC: \_\_\_\_\_ Peso \_\_\_\_\_ Talla \_\_\_\_\_ Cintura \_\_\_\_\_ Cadera \_\_\_\_\_ Índice C/C \_\_\_\_\_

5: ERC

- a) Edad de diagnostico de ERC: \_\_\_\_\_ EC: \_\_\_\_ KDOQI Etiología: \_\_\_\_\_
- b) Dubutación Clínica: \_\_\_\_\_
- c) c) Tiempo de Evolución de DM a su diagnostico: \_\_\_\_\_
- d) Tiempo de Evolución hasta el momento de ERC: \_\_\_\_\_
- e) Tratamiento actual: \_\_\_\_\_

VALORACIONES:

- 1. Oftalmología (Fondo de Ojo).

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Realizó:

\_\_\_\_\_

## Indice de Comorbilidad de Charlson (CCI)

### Indice de Comorbilidad de Charlson (CCI)

Edad del enfermo:

Infarto de miocardio:	<input type="checkbox"/>
Insuficiencia cardiaca congestiva:	<input type="checkbox"/>
Enfermedad vascular periférica:	<input type="checkbox"/>
Enfermedad cerebrovascular:	<input type="checkbox"/>
Demencia:	<input type="checkbox"/>
Enfermedad Pulmonar Crónica:	<input type="checkbox"/>
Patología del tejido Conectivo:	<input type="checkbox"/>
Enfermedad ulcerosa:	<input type="checkbox"/>
Patología hepática ligera:	<input type="checkbox"/>
Patología hepática moderada o grave:	<input type="checkbox"/>
Diabetes:	<input type="checkbox"/>
Diabetes con lesión orgánica:	<input type="checkbox"/>
Hemiplejía:	<input type="checkbox"/>
Patología renal (moderada o grave):	<input type="checkbox"/>
Neoplasias:	<input type="checkbox"/>
Leucemias:	<input type="checkbox"/>
Linfomas malignos:	<input type="checkbox"/>
Metástasis Sólida:	<input type="checkbox"/>
SIDA:	<input type="checkbox"/>

Puntuación CCI

Supervivencia estimada a los 10 años  %



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS CONTROLES  
ACUERDO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**



**NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN:** Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

**NOMBRE DEL ESTUDIO:** ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN AT1R Y EL POLIMORFISMO DEL GEN I/D DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE LA ANGIOTENSINA CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN POBLACIÓN MEXICANA

**NOMBRE DE LA PERSONA A CARGO DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (MEDICO DEL ESTUDIO O INVESTIGADOR PRINCIPAL):** Dra. Dominga Jiménez Guzmán

**DIRECCIÓN DEL CENTRO DEL ESTUDIO:** Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda.  
Centro Médico Nacional SIGLO XXI

**NÚMEROS TELEFÓNICOS** 56276900 ext 21755

**NOMBRE DEL PACIENTE:** \_\_\_\_\_

**México, D.F. a** \_\_\_\_\_

Lo (a) estamos invitando a participar en el estudio de investigación denominado “Asociación del Polimorfismo A1166C del gen AT1R y el Polimorfismo del gen I/D de la enzima convertidora de angiotensina con Insuficiencia Renal Crónica en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2” que se llevara a cabo en el servicio de Nefrología de la UMAE Hospital de Especialidades en el Centro Medico Nacional Siglo XXI, el cual tiene como objetivo determinar la prevalencia de los polimorfismos ya comentados y evaluar si existe asociación con IRC secundario a Nefropatía Diabética en pacientes de nuestro medio y en dado caso puedan ser utilizados como marcadores de riesgo al comparar grupos de pacientes con DT2.

Sabemos que hay muchos pacientes que a pesar de llevar una dieta muy estricta (baja en azúcares y grasas), hacer suficiente ejercicio físico, y apegarse estrictamente al tratamiento ya sea con hipoglucemiantes oral (pastillas tomadas) o aplicación de insulina llegan a tener insuficiencia renal (que no funcionen los riñones) y requerir de tratamiento con Diálisis o Hemodiálisis. Se ha

demostrado que estos pacientes tienen algunos polimorfismos (gen alterado) que explica el daño del riñón independiente de cómo se haya cuidado.

Por lo tanto el propósito del estudio es determinar la prevalencia de los polimorfismos A1166C del gen AT1R y el Polimorfismo del gen I/D de la enzima convertidora de angiotensina, los cuales son formas distintas de un mismo gen o bien un gen alterado, que ya han sido estudiados en otros países y se han relacionado con el daño en el riñón en forma progresiva que condiciona la necesidad de diálisis en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, por lo tanto están presentes en pacientes con insuficiencia renal, y esperamos que esté ausente en la mayoría de los pacientes con Diabetes Mellitus sin Nefropatía diabética (sin daño en el riñón por la Diabetes Mellitus), como es el caso de usted, por lo que vamos a evaluar si la ausencia de estas alteraciones genéticas se relaciona con menor daño de sus riñones. Además esperamos que en un futuro la determinación de este estudio nos sea de utilidad para saber desde un inicio el riesgo de llegar a insuficiencia renal y en caso necesario dirigir tratamiento mas dirigido en prevenir la progresión del daño y retardar lo más posible la necesidad de diálisis.

## **PARTICIPACIÓN O RETIRO**

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, de cualquier manera recibirá la atención médica que suele recibir en el IMSS, y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS.

Usted puede hacer las preguntas que desee al inicio o a lo largo del estudio a las personas encargadas del estudio.

Si usted acepta participar en este estudio obtendremos una única muestra de sangre tomada necesariamente para su control un volumen que no rebasa los 10 mililitros de sangre (equivalente a dos cucharadas cafetera). Como ocasionalmente sucede en las tomas de muestras de sangre puede presentar dolor en sitio de punción, requerir más de una punción por toma,

formación de moretón, inflamación o infección en el sitio de punción. Sin embargo le reiteramos que la toma de muestras será solo una determinación.

## **¿QUIÉN UTILIZARÁ Y COMPARTIRÁ INFORMACIÓN SOBRE MI PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

Su nombre no será divulgado fuera del hospital en donde usted está siendo tratado (a). La información que proporcione se almacenará en diferentes sitios bajo un número de código, sin que aparezca su nombre u otra información que le identifique. Sin embargo, nosotros podremos identificarle si fuera necesario por motivos de investigación. Conforme a los lineamientos de las buenas prácticas clínicas, el investigador del estudio mantendrá su información personal por al menos 5 años.

Existen leyes nacionales e internacionales que obligan al médico del estudio a proteger la privacidad de sus registros médicos. Los investigadores, harán todos los pasos razonables para asegurar la confidencialidad y protección estricta de su información personal.

Usted tiene el derecho de ver sus registros. No obstante, si firma esta forma, quizás no pueda ver o copiar algunos de sus registros hasta después de que todos los participantes hayan sido incluidos en el estudio.

## **PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

- Usted **NO** recibirá pago alguno por participar en este estudio.

Si firma esta forma:

- a) Usted da permiso al médico y el personal del estudio de elaborar sus registros médicos, realizar algunas preguntas y toma de muestras de sangre venosa.
- b) Usted da permiso al médico de compartir sus registros con otros investigadores involucrados en este estudio. Estas personas utilizarán sus registros para revisar el estudio, para verificar la seguridad y los resultados del estudio.
- c) Usted da permiso al médico y al personal del estudio de utilizar algunos hechos derivados de su participación en este estudio en libros, revistas, diarios y reuniones científicas. Si esto pasara nadie utilizará su nombre u otra información que pudiera emplearse para identificarle.

d) Usted da permiso, al médico del estudio de compartir todos sus registros y esta forma de consentimiento informado con la secretaria de salud (SSA), autoridades del IMSS y otras agencias de gobierno o regulatorias en los Estados Unidos Mexicanos y otros países. El médico del estudio puede también compartir sus registros médicos con el comité de revisión de investigación, con el grupo de revisión o con el comité de ética local de este hospital o clínica. Estas agencias pueden emplear sus registros para verificar la información del estudio, cómo están haciendo el estudio los investigadores, la seguridad de los participantes y los resultados del estudio.

Si Usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables del **Comité de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS Av. Cuauhtémoc 330, 4° piso, bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores, C.P. 06720, México D.F.** [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx) y/ o con los investigadores asociados Dra. Dominga Jiménez Guzmán y Dr. Emmer García Maldonado al teléfono 56 27 69 00 extensiones 21753 y 21755.

#### Declaración de Consentimiento

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

#### Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Firma del encargado de obtener el CI

\_\_\_\_\_  
Fecha

#### Firma del testigo

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo

\_\_\_\_\_  
Parentesco con participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS CASOS  
ACUERDO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN:** Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

**NOMBRE DEL ESTUDIO:** ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN AT1R Y EL POLIMORFISMO DEL GEN I/D DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE LA ANGIOTENSINA CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN POBLACIÓN MEXICANA

**NOMBRE DE LA PERSONA A CARGO DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (MEDICO DEL ESTUDIO O INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dra. Dominga Jiménez Guzmán

**DIRECCIÓN DEL CENTRO DEL ESTUDIO:** Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda.  
Centro Médico Nacional SIGLO XXI

**NÚMEROS TELEFÓNICOS** 56276900 ext 21755

**NOMBRE DEL PACIENTE:** \_\_\_\_\_

**México, D.F. a** \_\_\_\_\_

Lo (a) estamos invitando a participar en el estudio de investigación denominado denominado “Asociación del Polimorfismo A1166C del gen AT1R y el Polimorfismo del gen I/D de la enzima convertidora de angiotensina con Insuficiencia Renal Crónica en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2” que se llevara a cabo en el servicio de Nefrología de la UMAE Hospital de Especialidades en el Centro Medico Nacional Siglo XXI.

Sabemos que hay muchos pacientes que a pesar de llevar una dieta muy estricta (baja en azucares y grasas), hacer suficiente ejercicio físico, y apearse estrictamente al tratamiento ya sea con hipoglucemiantes oral (pastillas tomadas) o aplicación de insulina llegan a tener insuficiencia renal (que no funcionen los riñones) y requerir de tratamiento con Diálisis o Hemodiálisis. Se ha

demostrado que estos pacientes tienen algunos polimorfismos (gen alterado) que explica el daño del riñón independiente de cómo se haya cuidado.

Por lo tanto el propósito del estudio es determinar la prevalencia de los A1166C del gen AT1R y el Polimorfismo del gen I/D de la enzima convertidora de angiotensina, los cuales son formas distintas de un mismo gen o bien un gen alterado, que ya han sido estudiados en otros países y se han relacionado con el daño en el riñón en forma progresiva que condiciona la necesidad de diálisis en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 como es el caso de usted, por lo que vamos a evaluar si estas alteraciones genéticas se relaciona con el daño de sus riñones que le ocasiono la necesidad de tratamiento como Diálisis Peritoneal o Hemodiálisis. Además esperamos que en un futuro la determinación de este estudio nos sea de utilidad para saber desde un inicio el riesgo de llegar a insuficiencia renal y en caso necesario dirigir tratamiento mas dirigido en prevenir la progresión del daño y retardar lo más posible la necesidad de diálisis.

### **PARTICIPACIÓN O RETIRO**

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, de cualquier manera recibirá la atención médica que suele recibir en el IMSS, y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS.

Por favor, lea la información que le proporcionamos y haga las preguntas que juzgue pertinentes al inicio o a lo largo del estudio.

Si usted acepta que se le determine la presencia de polimorfismos ya mencionados obtendremos de las muestras de sangre tomadas necesariamente para su control un volumen adicional que no rebasa los 5 mililitros de sangre ( equivalente a una cucharada cafetera. Como ocasionalmente sucede en las tomas de muestras de sangre puede presentar dolor en sitio de punción, requerir más de una punción por toma, formación de moretón, inflamación o infección en el sitio de punción. Sin embargo le reiteramos que la toma de muestras es necesaria para el estudio genético y será solo una determinación, la cual solo se utilizara para la determinación de los genes ya mencionados.

## **¿QUIÉN UTILIZARÁ Y COMPARTIRÁ INFORMACIÓN SOBRE MI PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

Su nombre no será divulgado fuera del hospital en donde usted está siendo tratado (a). La información que proporcione se almacenará en diferentes sitios bajo un número de código, sin que aparezca su nombre u otra información que le identifique. Sin embargo, nosotros podremos identificarle si fuera necesario por motivos de investigación. Conforme a los lineamientos de las buenas prácticas clínicas, el investigador del estudio mantendrá su información personal por al menos 5 años.

Existen leyes nacionales e internacionales que obligan al médico del estudio a proteger la privacidad de sus registros médicos. Los investigadores, harán todos los pasos razonables para asegurar la confidencialidad y protección estricta de su información personal.

Usted tiene el derecho de ver sus registros. No obstante, si firma esta forma, quizás no pueda ver o copiar algunos de sus registros hasta después de que todos los participantes hayan sido incluidos en el estudio.

### **PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

- Usted **NO** recibirá pago alguno por participar en este estudio.

Si firma esta forma:

e) Usted da permiso al médico y el personal del estudio de elaborar sus registros médicos, realizar algunas preguntas y toma de muestras de sangre venosa.

f) Usted da permiso al médico de compartir sus registros con otros investigadores involucrados en este estudio. Estas personas utilizarán sus registros para revisar el estudio, para verificar la seguridad y los resultados del estudio.

g) Usted da permiso al médico y al personal del estudio de utilizar algunos hechos derivados de su participación en este estudio en libros, revistas, diarios y reuniones científicas. Si esto pasara nadie utilizará su nombre u otra información que pudiera emplearse para identificarle.

h) Usted da permiso, al médico del estudio de compartir todos sus registros y esta forma de consentimiento informado con la secretaria de salud (SSA), autoridades del IMSS y otras agencias de gobierno o regulatorias en los Estados Unidos Mexicanos y otros países. El médico del estudio puede también compartir sus registros médicos con el comité de revisión de investigación, con el grupo de revisión o con el comité de ética local de este hospital o clínica. Estas agencias pueden emplear sus registros para verificar la información del estudio, cómo están haciendo el estudio los investigadores, la seguridad de los participantes y los resultados del estudio.

Si Usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables del **Comité de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS Av. Cuauhtémoc 330, 4° piso, bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores, C.P. 06720, México D.F.** [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx) y/ o con los investigadores asociados Dra. Dominga Jiménez Guzmán y Dra. Ivonne Elizabeth Bárcenas Arredondo al teléfono 56 27 69 00 extensiones 21753 y 21755.

#### Declaración de Consentimiento

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

#### **Firma del encargado de obtener el consentimiento informado**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Firma del encargado de obtener el CI

\_\_\_\_\_  
Fecha

#### **Firma del testigo**

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo

\_\_\_\_\_  
Parentesco con participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

### ANEXO III. DEFINICIÓN DE VARIABLES:

Nombre de la variable	Tipo de variable	Escala de medición	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medición
<b>VARIABLES DEMOGRÁFICAS</b>					
<b>Edad</b>	Cuantitativa a continua	Razón	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el registro del paciente	<b>Años</b>
<b>Sexo</b>	Cualitativa dicotómica	Nominal	Taxón que agrupa a especies que comparten ciertos caracteres	Sexo consignado en la hoja de registro	<b>1=Hombre 0 = Mujer</b>
<b>Índice de masa corporal</b>	Cuantitativa a Continua	Razón	Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo	Relación del peso en Kg con el cuadrado de talla en metros, registrado durante las consultas	<b>Kg/m<sup>2</sup></b>
<b>HIPERTENSION ARTERIAL</b>	Cualitativa Dicotomica	Razón	Presion arterial mayor de 140-90mmHg de acuerdo a los criterios de la JNC 8	Registro de presión arterial sistólica y diastólica durante la entrevista	<b>0=No 1=Si</b>
<b>HISTORIA FAMILIAR DE DIABETES TIPO 2</b>	Cualitativa dicotómica	Nominal	Antecedente familiar (padres, tíos, abuelos) de Diabetes Mellitus tipo 2.	Identificación en la hoja de recolección de datos durante la entrevista.	<b>0 = No 1 = Si</b>
<b>TIEMPO DE EVOLUCION DE DIABETES MELLITUS TIPO 2</b>	Cuantitativa a Continua	Razón	Tiempo transcurrido desde el diagnostico de Diabetes Mellitus Tipo 2.	Identificación en la hoja de recolección de datos durante la entrevista.	<b>años</b>

<b>RETINOPATIA DIABETICA</b>	Cualitativa dicotómica	Nominal	Retinopatía proliferativa en pacientes con diagnostico de Diabetes Mellitus tipo 2 de larga evolución	Pacientes con diagnostico de Retinopatía diabética por Oftalmólogo	<b>0 = No</b> <b>1 = Si</b>
<b>INDICE DE COMORBILIDAD DE CHARLSON</b>	Cuantitativa Continua	Razón	Sistema de evaluación de la esperanza de vida a los diez años, en dependencia de la edad en que se evalúa, y de las comorbilidades del paciente.	Se evaluará los puntos y el porcentaje de mortalidad a 10 años con un cuestionario en la hoja de registro durante la entrevista	<b>PUNTOS</b> <b>%</b>
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>					
<b>POLIMORFISMO DEL GEN I/D ECA</b>	cualitativa dicotómica	Nominal	Variación genética basado en la presencia (I) o ausencia (D) de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen ECA	Identificación mediante genotipación por PCR en tiempo real a partir de células mononucleares en muestra venosa	<b>0 = No</b> <b>1 = Si</b>
<b>POLIMORFISMO A/C DEL GEN AT1R</b>	cualitativa dicotómica	Nominal	Variación genética debida a la sustitución de citosina por adenina en la posición 1166 del gen ATR1	Identificación mediante genotipación por PCR en tiempo real a partir de células mononucleares en muestra venosa	<b>0 = No</b> <b>1 = Si</b>
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>					
<b>DIABETES MELLITUS TIPO 2 SIN NEFROPATIA DIABETICA</b>	Cualitativa dicotómica	Nominal	Paciente con diagnostico de Diabetes Mellitus tipo 2 de acuerdo a las Guías de la ADA de mas de 5 años de diagnostico sin nefropatía diabética insipiente o establecida	Según las Guías ADA, nivel de glucosa mayor de 126mg/dl en ayuno o mayor de 200mg/dl en pacientes con signos clásicos de hiperglucemia, Hb	<b>0 = No</b> <b>1 = Si</b>

				glucosilada mayor de 6.5%	
<b>DIABETES MELLITUS TIPO 2 CON INSUFICIENCIA RENAL CRONICA</b>	Cualitativa dicotómica	Nominal	Paciente con Insuficiencia Renal Crónica secundaria a Nefropatía diabética	Pacientes con IRC secundaria a ND que se encuentren en Terapia de sustitución renal con Diálisis Peritoneal o Hemodiálisis	<b>0 = No</b> <b>1 = Si</b>