



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO**

**“ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES DE LA ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA Y FRMD3 EN EL DESARROLLO DE
NEFROPATÍA DIABÉTICA EN POBLACIÓN MEXICANA”**

**TÉSIS:
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA**

**PRESENTA:
DR. JUAN DANIEL DÍAZ GARCÍA**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE:
DR. MARIO EDUARDO ALAMILLA SÁNCHEZ**
Adscrito y Profesor Titular del Servicio de Nefrología, Diálisis y Trasplante
CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL
ESTADO

Ciudad de México, julio de 2023



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.

**CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO**

AUTORIZACIONES

Dra. Denisse Añorve Bailón
Subdirectora de enseñanza e investigación

Dr. Paul Mondragón Terán
Coordinador de investigación

Dr. José Luis Aceves Chimal
Encargado de la coordinación de enseñanza

Dr. Julio Manuel Flores Garnica
Jefe de servicio

DR. MARIO EDUARDO ALAMILLA SANCHEZ
Profesor titular y Asesor de la tesis

Este trabajo de tesis con número de registro: 291.2023 presentado por el Dr. Juan Daniel Díaz García y se presenta en forma con visto bueno por el tutor principal de la tesis Dr. Mario Eduardo Alamilla Sanchez con fecha julio de 2023 para su impresión final.

Dra. Denisse Añorve Bailón
Subdirectora de enseñanza e Investigación

Dr. Mario Eduardo Alamilla Sanchez
Investigador Principal

**“ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES DE LA ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA Y FRMD3 EN EL DESARROLLO DE
NEFROPATÍA DIABÉTICA EN POBLACIÓN MEXICANA”**

Este trabajo fue realizado en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado en el Servicio de Nefrología, Diálisis y Trasplante bajo la dirección del Dr. Mario Eduardo Alamila Sanchez, con el apoyo de los adscritos del servicio quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.

COLABORADORES:

**Dr. Mario Eduardo Alamila Sanchez
Investigador Principal**

**Dr. Juan Daniel Díaz García
Investigador Asociado Principal**

**Dr. Juan Manuel Flores Garnica
Investigador Asociado**

**Dr. Angel Alfonso Garduño Perez
Investigador Asociado**

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi Alma Mater, el Centro Medico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE:
Por haberme permitido ser parte de él y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar esta bondadosa especialidad de Nefrología.

A mis profesores:

Que marcaron cada etapa de mi camino, por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis.

A mi asesor y director de tesis:

Dr. Mario Eduardo Alamilla Sanchez y Dra. Yolanda Saldaña Alvarez; por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido la paciencia para guiarme por medio de su apoyo, tiempo compartido y asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis, impulsando el desarrollo de mi formación profesional.

A mis padres y hermanos:

*Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.
Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.*

ÍNDICE

I.	Resumen.....	07
II.	Introducción.....	08
III.	Hipótesis.....	12
IV.	Objetivos.....	12
V.	Material y Métodos.....	13
IV.	Resultados.....	18
V.	Discusión.....	23
VI.	Conclusión.....	25
VII.	Referencias bibliográficas.....	26
VIII.	Tablas.....	30
IX.	Figuras.....	36

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Aproximadamente el 20-40% de los pacientes diabéticos desarrollan nefropatía, que es la principal causa de enfermedad renal crónica, llevando a un estadio terminal, incrementando la morbimortalidad en el paciente diabético. Dada la alta morbilidad y mortalidad asociadas con la ND, la detección eficaz es fundamental. El desarrollo de formas prácticas para identificar a los pacientes con buen pronóstico de aquellos con mal pronóstico sigue siendo importante para el manejo de pacientes con diabetes y ERC, especialmente en el ámbito de la atención primaria. Una necesidad clínica es identificar biomarcadores novedosos que tengan el potencial de diagnosticar y estratificar el riesgo de ERC en pacientes con diabetes antes que las técnicas actuales. Se han propuesto biomarcadores individuales genéticos, denominados polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que podrían representar un marcador potencial no invasivo para el diagnóstico temprano de la ND.

OBJETIVO: Determinar la asociación de los polimorfismos de los genes de la Enzima Convertidora de Angiotensina y *FRMD3* con el riesgo de desarrollar nefropatía diabética en pacientes con diabetes tipo 2, del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE, de abril a diciembre de 2022.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio de Casos y Controles, comparativo, observacional, ambispectivo y transversal, en el que participaron hombres y mujeres, mayores a 18 años de edad, incluyendo pacientes con diagnóstico de DT2 confirmada de acuerdo con las guías de la Asociación Americana de Diabetes atendidos en la consulta externa de los Servicios de Nefrología y Endocrinología de abril a diciembre de 2022, a quienes se les tomaron muestras de sangre periférica para la extracción del ADN genómico por el método de fenol/cloroformo y posterior genotipificación, con el sistema iPLEX Assay que requiere el diseño de oligonucleótidos específicos, la amplificación por reacción en cadena de polimerasa y por último detección de los SNPs por espectrometría de masas.

RESULTADOS: En este estudio participaron un total de 400 pacientes, 199 (49.75%) hombres y 201 (50.25%) mujeres, dentro de los cuáles se dividieron en tres grupos, 100 pacientes con diabetes tipo 2 y nefropatía diabética confirmada por biopsia renal, 100 pacientes con diabetes tipo 2 sin nefropatía diabética y 200 controles sanos. Se estudiaron un total de 3 polimorfismos de los genes de la *ECA* y *FRMD3*. Los alelos silvestres fueron los más frecuentes en todos los grupos. Dentro de los polimorfismos analizados en la regresión logística, donde las variables independientes clínicas estudiadas estadísticamente significativas fueron la edad (OR, 1.97; CI95%: 1.53-2.01, p=0.01), microalbuminuria (OR, 1.99; CI95%: 1.34-2.11, p=0.0005), retinopatía (OR, 3.02; CI95%: 1.87-3.89, p=0.005) y hemoglobina glucosilada (OR, 1.34; CI95%: 1.02-1.76, p=0.001). Dentro de los polimorfismos analizados en la regresión logística, resultaron rs179975 CA (OR, 6.2; CI95%: 1.15-7.48, p=0.03), rs1888747 GA (OR, 6.6; CI95%: 4.60-8.45, p=0.002) y rs10868025 GC (OR, 4.1; CI95%: 2.40-5.60, p=0.002) con un nivel de significancia de Wald de 4.51, 9.51 y 7.56 respectivamente.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN: Nuestro estudio demostró la asociación de variantes genéticas bien establecidas de los polimorfismos de los genes de la *ECA* y *FRMD3* con la presencia de nefropatía diabética, mostrando que estos SNPs, específicamente rs179975 CA, rs1888747 GA y rs10868025 GC, pueden representar marcadores genéticos importantes en el desarrollo de esta complicación de la enfermedad y pudieran ser un factor predisponente debido a la alta frecuencia y fuerza de asociación que se observaron en nuestra población estudiada, representando este el primer estudio en América Latina. Esto sugiere que existe una alta susceptibilidad de nuestra población a desarrollar nefropatía diabética. Es importante reproducir este estudio en las diferentes áreas geográficas con el fin de poner de manifiesto las variaciones y la gran heterogeneidad étnica de los individuos, ya que estos estudios de los SNPs asociados a nefropatía diabética a nivel mundial han cobrado fuerza, por lo que creemos que de esta manera se podrá contar con un grupo de polimorfismos que se puedan utilizar en un futuro cercano como una herramienta pronóstica en el control de esta patología.

PALABRAS CLAVE: Enzima convertidora de angiotensina; *FRMD3*; Nefropatía; Diabetes tipo 2, Polimorfismo de un solo nucleótido.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) afecta aproximadamente al 15% de la población y la enfermedad renal diabética (ERD) o también llamada nefropatía diabética (ND) es la causa más común de ERC a nivel mundial 1,2 Aproximadamente el 30 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y el 40 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) desarrollan ERC.1 Debido a que los riesgos de mortalidad y morbilidad aumentan con la progresión de la ERC, es imperativo priorizar la prevención, reconocimiento y manejo de la ND en el entorno de atención primaria.3

La ND está impulsada principalmente por 3 procesos que se cruzan: lesión por hiperfiltración de la barrera de filtración glomerular (BFG), expansión del mesangio glomerular y estrés oxidativo. El desarrollo de estos procesos es multifactorial y se cree que está relacionado con la patología hemodinámica, metabólica e inmunológica 4-6.

Los riesgos de desarrollo y progresión de la ND dependen principalmente de la duración de la diabetes, el control de la glucemia y el control de la hipertensión.7,8. Para la DM2, aproximadamente el 30 % de los pacientes desarrollan microalbuminuria dentro de los 10 años posteriores al diagnóstico de diabetes, y aproximadamente el 5 % progresa a nefropatía manifiesta cada año.7

Casi todos los pacientes con tasa de filtrado glomerular (TFG) baja por ND tienen albuminuria previa, y el grado de albuminuria predice la velocidad de disminución de la TFG 8–11. El manejo eficaz de la hiperglucemia y la hipertensión puede retrasar la aparición de albuminuria como también de la progresión de la ERD 12.

La mortalidad por todas las causas aumenta a medida que avanza la ND, principalmente por enfermedades cardiovasculares (ECV)7. Según los datos sobre DM2 del Estudio Prospectivo de Diabetes del Reino Unido (UKPDS), la tasa anual de mortalidad por ECV es del 0,7 % para quienes tienen DM2 sin ND, 2 % para aquellos con albuminuria 30-300 mg en 24 hrs, 3,5 % para aquellos con albuminuria >300 mg en 24 hrs y 12,1 % para aquellos con baja TFG (<60 ml/min) 7. El grado de albuminuria es un predictor de malos resultados de ECV, y la reducción de la albuminuria tiene efectos cardioprotectores 12.

Dada la alta morbilidad y mortalidad asociadas con la ND, la detección eficaz es fundamental. Las pautas de la Asociación Americana de Diabetes recomiendan la evaluación anual de la TFG y la albuminuria en todos los pacientes con DM2 y aquellos con DM1 durante 5 años o más 13,14. A pesar de esto, menos del 50 % o igual de los pacientes con diabetes se someten a pruebas de albuminuria. La presencia de albúmina en orina mayor o igual a 30 mg en 24 hrs o TFG estimada (TFGe) menor de 60 ml/min/1,73 m² durante al menos 3 meses es necesaria para el diagnóstico de ND 15.

Aproximadamente el 20 % de los pacientes con enfermedad renal por diabetes progresan hasta necesitar diálisis sin recibir atención de un nefrólogo 16. Las guías actuales recomiendan la derivación a nefrología

cuando la TFGe desciende por debajo de 30 ml/min/1,73 m², cuando la etiología de la ERC está en duda, o cuando hay desafíos de manejo (hipertensión resistente, empeoramiento de la albuminuria, disminución rápida de la tasa de filtración glomerular, etc.).¹⁷ Una mayor duración de la atención nefrológica previa a la diálisis se asocia con una mejor preparación del paciente para la diálisis y una mayor supervivencia de 1 año después del inicio de la diálisis ¹⁸.

La ND fue originalmente estadificada por Mogensen ¹⁹ en la década de 1980 como una enfermedad progresiva que comenzaba con la pérdida de pequeñas cantidades de albúmina en la orina (30-300 mg por día), conocida como microalbuminuria, nefropatía oculta o incipiente. A medida que se perdían cantidades cada vez mayores de albúmina en la orina y la albuminuria se hacía detectable mediante el análisis de orina estándar con tira reactiva (>300 mg por día), se utilizaron los términos macroalbuminuria o nefropatía manifiesta. Esta presentación fue seguida clásicamente por una disminución implacable de la función renal e insuficiencia renal. Este paradigma ha demostrado ser útil en estudios clínicos, para identificar cohortes que tienen un mayor riesgo de resultados de salud adversos, sin embargo muchos pacientes con diabetes tipo 1 y la mayoría con diabetes tipo 2 no siguen este curso clásico en la práctica clínica moderna ²⁰. Por ejemplo, muchos pacientes diabéticos con insuficiencia renal no manifiestan una pérdida excesiva de albúmina urinaria ^{21,22}. De hecho, del 28 % de la cohorte del Estudio Prospectivo de Diabetes del Reino Unido (UKPDS) que desarrolló una TFGe de <60 ml/min/1,73 m², la mitad no tenía albuminuria previa ²³. Incluso en el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) del 11 % de los pacientes con diabetes tipo 1 que desarrollaron una eGFR de <60 ml/min/1,73 m², el 40 % nunca había experimentado una nefropatía manifiesta ²⁴. Al mismo tiempo, la mayoría de los pacientes con microalbuminuria no aumentan progresivamente su excreción urinaria de albúmina como en el paradigma clásico y comúnmente se observa una “remisión” espontánea e inducida por el tratamiento de la albuminuria ²⁵.

Por eso actualmente se conocen los 4 fenotipos de la trayectoria de la ND. El fenotipo clásico de enfermedad renal diabética se caracteriza por albuminuria alta persistente y una disminución progresiva posterior en la tasa de filtración glomerular que a menudo conduce a insuficiencia renal, este fenotipo se observa principalmente en personas con diabetes y control glucémico deficiente. El segundo fenotipo es donde existe una regresión de la albuminuria en pacientes con diabetes, que es probablemente inducida por los efectos beneficiosos de intervenciones multidisciplinarias como el uso de fármacos antihipertensivos. En el tercer fenotipo, se puede observar una rápida disminución de la TFG en personas con diabetes (>5 ml/min/1.73 m² al año) incluso en ausencia de albuminuria, desarrollando insuficiencia renal en un corto período de tiempo y por último el cuarto fenotipo donde hay una disminución de la TFG sin albuminuria, este fenotipo se denomina ND no proteinúrica o no albuminúrica. Los pacientes con ND no proteinúrica o no albuminúrica tienen una tasa más lenta de pérdida de TFG en comparación con aquellos con ERD proteinúrica o albuminúrica ²⁶.

El desarrollo de formas prácticas para identificar a los pacientes con buen pronóstico de aquellos con mal pronóstico sigue siendo importante para el manejo de pacientes con diabetes y ERC, especialmente en el ámbito de la atención primaria. Una necesidad clínica es identificar biomarcadores novedosos que tengan el potencial de diagnosticar y estratificar el riesgo de ERC en pacientes con diabetes antes que las técnicas actuales. De hecho, se han propuesto biomarcadores individuales genéticos, denominados polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que podrían representar un marcador potencial no invasivo para el diagnóstico temprano de la ND 27.

Durante la última década, la prevalencia de diabetes en general ha aumentado en todo el mundo, como resultado del aumento continuo de la incidencia de diabetes tipo 2 y como resultado un incremento en la ND 28. En la nefropatía diabética humana y experimental, la hipertensión sistémica y glomerular desempeñó un papel en el inicio y la progresión de la nefropatía 29. Estos cambios hemodinámicos pueden explicarse en parte por alteraciones en el sistema renina-angiotensina. En consecuencia, los genes implicados en el sistema renina-angiotensina se han sugerido como posibles predisposiciones genéticas para el desarrollo de la nefropatía diabética. Publicaciones anteriores sugieren que la predisposición genética juega un papel en el desarrollo de la nefropatía diabética 30–33. Polimorfismo significa el fenómeno de tener dos o más variantes genéticas. Se sabe que el polimorfismo del ADN, hasta ahora, existe para la gran mayoría de los genes humanos. En la diabetes mellitus, se pueden idear varios modelos para representar diferentes conceptos de la patogenia de la nefropatía diabética e incorporar factores genéticos 34. La enzima convertidora de angiotensina-I (ECA) es una de las enzimas clave en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) y el polimorfismo de inserción (I)/delección (D) de este gen se ha estudiado ampliamente con enfermedades renales 35 y complicaciones cardiovasculares de la nefropatía diabética 36,37.

Se cree que el polimorfismo ECA I/D es un marcador de polimorfismo funcional que regula la actividad de la ECA circulante y tisular 38-43. Su asociación con la nefropatía diabética ha sido ampliamente investigada en poblaciones europeas y asiáticas explorando las asociaciones genéticas de este polimorfismo con la nefropatía diabética 44. Hasta ahora, el polimorfismo I/D del gen ECA es el marcador de asociación con la nefropatía diabética más estudiado en estas poblaciones, sin embargo en América latina no se han realizado dichos estudios. Un metanálisis realizado mostró una asociación consistente entre el alelo ECA D o el genotipo DD y el riesgo de ND en pacientes con nefropatía diabética, fue en 2005, Ng et al. 45 que informaron de un metanálisis de 14,727 pacientes diabéticos que incluía 47 estudios (8663 casos, 6064 controles) de 1994 a 2004, el efecto fue más pronunciado en los asiáticos con diabetes tipo 2, seguidos por los caucásicos, sugiriendo que estos hallazgos pueden tener implicaciones para el manejo de la nefropatía diabética usando inhibidores de la ECA, especialmente entre los asiáticos diabéticos tipo 2. En 2012, Wang et al. informaron otro metanálisis. 46. Realizaron un metanálisis exhaustivo de 63 estudios publicados entre 1994 y 2010 con

14,108 casos y 12,472 controles que relacionaban variantes del polimorfismo ECA I/D con el riesgo de desarrollar nefropatía diabética.

Incluyeron todos los estudios que determinaron la distribución del genotipo del polimorfismo ECA I/D en casos con diabetes tipo 1 o tipo 2 y nefropatía y en controles enfermos y controles sanos. El análisis general mostró una asociación significativa entre el polimorfismo ECA I/D y el riesgo de nefropatía diabética para todos los modelos genéticos (ID frente a II: OR = 1,12, IC del 95 % 1,02–1,24; DD frente a II: OR = 1,27, IC 95 % 1,13–1,44; contraste de alelos: OR = 1,15, IC 95 % 1,08–1,23; modelo dominante: OR = 1,18, IC 95 % 1,07–1,31; y modelo recesivo: OR = 1,18, IC 95 % 1,08–1,30, respectivamente). En el análisis estratificado por etnia y tipo de diabetes mellitus, encontraron además que el grupo asiático con DM tipo 2 mostró una asociación significativa para todos los modelos genéticos (ID frente a II: OR = 1,25, IC del 95 % 1,07–1,47; DD frente a II: OR = 1,57, IC 95 % 1,24–1,98; contraste de alelos: OR = 1,30, IC 95 % 1,15–1,46; modelo dominante: OR = 1,37, IC 95 % 1,10–1,69; y modelo recesivo: OR = 1,34, 95 % IC 1,15–1,56, respectivamente). Sin embargo, no pudieron encontrar efectos significativos para diferentes modelos genéticos en otros subgrupos. Los autores sugirieron que el polimorfismo ACE I/D puede contribuir al desarrollo de nefropatía, especialmente en el grupo asiático con diabetes mellitus tipo 2.

La evaluación del polimorfismo ECE I/D en la nefropatía diabética es una herramienta confiable para identificar a los pacientes diabéticos en riesgo e identificar a los pacientes que pueden beneficiarse de la terapia antiproteinúrica (renoprotectora) con inhibidores de la ECA y/o ARB. Sin embargo dichos resultados son únicamente en población caucásica y asiática, siendo necesario la replicación de estos estudios en otras poblaciones como américa latina 46.

De igual manera nuevos estudios han observado que el genotipo FRMD3 en la posición rs1888747 muy probablemente se correlaciona con la enfermedad renal diabética. La expresión génica prominente se puede reducir a tres alelos. En primer lugar, se observó que el alelo CC es un gen protector de la enfermedad renal diabética, lo que sugiere otra patología glomerular. En segundo lugar, GC y GG eran alelos progresivos que eran factores predisponentes que favorecían la nefropatía diabética. Por lo tanto, la identificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de rs1888747 en el gen FRMD3 de las células sanguíneas podría servir potencialmente como un procedimiento menos invasivo en comparación con la biopsia renal 47-53.

Un estudio reciente en 2021 realizado en población asiática, evaluó a pacientes que ya tenían resultados histopatológicos renales es decir con diagnóstico confirmado de ND por biopsia renal y se estudió si había asociación con los polimorfismos del gen FRMD3, proteínas estructural que forma parte del citoesqueleto, principalmente en células del glomérulo renal. Los sujetos fueron clasificados en tres grupos; ND con retinopatía diabética (RD), ND sin RD y pacientes con diabetes con enfermedad renal no diabética (ERND). Se analizaron los polimorfismos FRMD3 en cada grupo. Se encontró que la prevalencia de los genotipos GG,

CG y CC fue de 44,4%, 42,2% y 13,3% respectivamente. No hubo diferencias significativas en los parámetros clínicos, que consistieron en duración de la enfermedad, proteinuria y complicaciones en ND con o sin RD y DM2 con ERND. El alelo G se encontró principalmente en pacientes ND con RD (50,8 %) mientras que el alelo C se encontró en pacientes DM con ERND (43,5 %) ($p = 0,02$). Hubo una asociación significativa entre el genotipo CC en ERND en comparación con GG ($p = 0,001$). Además, el alelo C fue 2,10 veces más asociado con ERND que el alelo G ($p = 0,03$). El genotipo CC se correlacionó con el riesgo de ERND que los genotipos GG y GC, con razones de probabilidad de 6,89 y 4,91, respectivamente ($p = 0,02$) 54.

Antes dichos resultados prometedores en la identificación de la ND y de la ERND, se ha propuesto realizarlo en otras zonas demográficas, ya que pudiera representar un biomarcador no invasivo en el diagnóstico oportuno de la ND y ERND.

3. HIPOTESIS

Los pacientes con diabetes tipo 2 y presencia de los polimorfismos de los genes de la Enzima Convertidora de Angiotensina y FRMD3, presentarán un OR igual o mayor a 2 en el desarrollo de nefropatía diabética.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación de los polimorfismos de los genes de la Enzima Convertidora de Angiotensina y FRMD3 con el riesgo de desarrollar nefropatía diabética en pacientes con diabetes tipo 2, del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE, de abril a diciembre de 2022.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Primarios

- Determinar la frecuencia de sujetos con Diabetes tipo 2 con presencia de los polimorfismos.
- Calcular el riesgo de los polimorfismos para el desarrollo de nefropatía diabética.
- Tipificar los polimorfismos en pacientes con y sin nefropatía diabética

Secundarios

- Determinar la prevalencia de los diferentes fenotipos en los pacientes con nefropatía diabética.
- Correlacionar el fenotipo y los polimorfismos asociados en los pacientes con nefropatía diabética.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio de casos y controles - observacional, transversal, ambispectivo y analítico.

Población de estudio: Pacientes mexicanos de mayores de 18 años de edad con diagnóstico de DT2 con y sin nefropatía diabética que acudieron al Servicio de Nefrología y Endocrinología del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de abril a diciembre de 2022.

Universo de trabajo: Pacientes adultos mexicanos mayores de 18 años de edad con diagnóstico de diabetes tipo 2, adscritos al ISSSTE.

Tiempo de ejecución: 12 meses

Grupo control: Pacientes mexicanos mayores de 18 años de edad con diagnóstico de DT2 sin nefropatía diabética que acudieron al Servicio de Nefrología y Endocrinología del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de abril a diciembre de 2022.

Grupo a intervenir: Pacientes mexicanos de mayores de 18 años de edad con diagnóstico de DT2 con nefropatía diabética que acudieron al Servicio de Nefrología y Endocrinología del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de abril a diciembre de 2022.

Criterios de inclusión:

- Pacientes hombres y mujeres mexicanos mayores de 18 años de edad con diagnóstico confirmado de diabetes tipo 2 atendidos en la consulta externa del servicio de Nefrología y Endocrinología, del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de abril a diciembre de 2022.
- Con nefropatía diabética posterior al diagnóstico establecido de DT2 para el grupo de casos y sin nefropatía diabética para el grupo de controles.
- Autorización con consentimiento informado por parte del paciente.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con diagnóstico de enfermedad renal crónica independiente de la DT2 (glomerulopatías secundarias por enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, fármacos).
- Pacientes embarazadas.

Criterios de eliminación:

- Muestra de sangre no analizable por medio de estudios moleculares
- Retiro del consentimiento informado.

Tipo de muestreo: El tipo de muestreo que se incluyó en el estudio fue probabilístico aleatorio simple tanto para los casos como para los controles, a través de la generación de números al azar por medio de un software (Microsoft Excel).

Tamaño de muestra:

El tamaño de muestra se calculó con el software Epidat versión 4.2 (<https://www.sergas.es/Saude-publica/EPIDAT>). Para nuestro estudio se calculó un tamaño de muestra pareada por sexo. En Epidat 4.2, el cálculo del tamaño de muestra para estudiar si existe asociación entre la exposición de los polimorfismos y las nefropatía diabética en un estudio de casos y controles, cuando los dos grupos están emparejados, se basa en la prueba de Connor RJ.

Los factores que intervinieron en el cálculo fueron:

1. Frecuencia del polimorfismo menos frecuente en los casos (P1).
2. Frecuencia del polimorfismo menos frecuente en los controles (P2).
3. Razón de momios a detectar (Odds ratio, OR).

Estos tres valores están relacionados entre sí del modo siguiente:

$$P_1 = \frac{OR P_2}{(1 - P_2) + OR P_2}, P_2 = \frac{P_1}{OR(1 - P_1) + P_1}.$$

La expresión quedó finalmente así:

$$OR = \frac{P_1(1 - P_2)}{P_2(1 - P_1)},$$

por lo que, especificando dos de estos parámetros, el otro quedó perfectamente determinado.

Tomando en cuenta esta información y la frecuencia del polimorfismo menos frecuente de casos y controles, se calculó el tamaño de muestra para la población de estudio con los siguientes parámetros:

Frecuencia de casos	67%
Frecuencia de controles	13%
Odds ratio a detectar	2.0
Nivel de confianza	95%
Resultados	
Potencia	80%
Número de casos	100
Número de controles	100

Técnicas y procedimientos empleados:

1. Los pacientes que acudieron a la consulta externa de nefrología y endocrinología del CMN 20 de Noviembre ISSSTE entre abril a diciembre de 2022, fueron seleccionados en relación a los criterios de inclusión y exclusión. Una vez esto, fueron invitados a participar en el proyecto.

2. Se aplicó la carta de consentimiento informado.

3. Se revisaron los expedientes clínicos y posteriormente se capturaron los datos que se evaluaron en el estudio.

4. Se tomaron y recolectaron 10 ml de sangre por venopunción en el antebrazo (tubo con anticoagulante el EDTA-Na al 15 %).

5. Se extrajo ADN genómico a partir de sangre periférica, que se llevo a cabo en el Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad del Instituto Nacional de Medicina Genómica, llevandose a cabo los siguientes pasos:

- Resuspender el sedimento de células (1 x 10⁶) en 480 µl de TNE 1x.
- Agregar 100 µl de SDS 10% y 20 µl de proteinasa K (20 mg/ml).
- Incubar en baño maría a 37 °C por 12 horas.
- Centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos.
- Recuperar el sobrenadante en otro tubo Eppendorf.
- Agregar 600 µl de fenol - cloroformo (1:1). Mezclar por 5 minutos hasta su homogenización.
- Centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos.
- Recuperar el sobrenadante en otro tubo Eppendorf.
- Agregar 600 µl de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1). Mezclar por 5 minutos hasta su homogenización.
- Centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos.
- Recuperar el sobrenadante en otro tubo Eppendorf.
- Agregar 50 µl de acetato de sodio 3 M.
- Agregar 1 ml de etanol absoluto frío (-20°C). Agitar gentilmente y esperar su precipitación.
- Centrifugar a 12.000 rpm por 5 minutos.
- Desechar el sobrenadante. Agregar 1ml de etanol al 70% conservado a -20°C.
- Centrifugar a 12.000 rpm por 5 minutos.
- Desechar el sobrenadante.
- Secar el DNA a medio ambiente.
- Agregar 100 µl de agua bidestilada y dejar por una noche a temperatura ambiente para su disolución completa.
- Conservar a 4°C.
- Cuantificar el ADN obtenido por espectrofotometría.

6. Genotificación.

La genotificación se realizó con el sistema iPLEX Assay acoplado al MassARRAY de la compañía Agencia Bioscience (<http://agenabio.com/>). En la figura 1 se muestra el resumen del proceso:

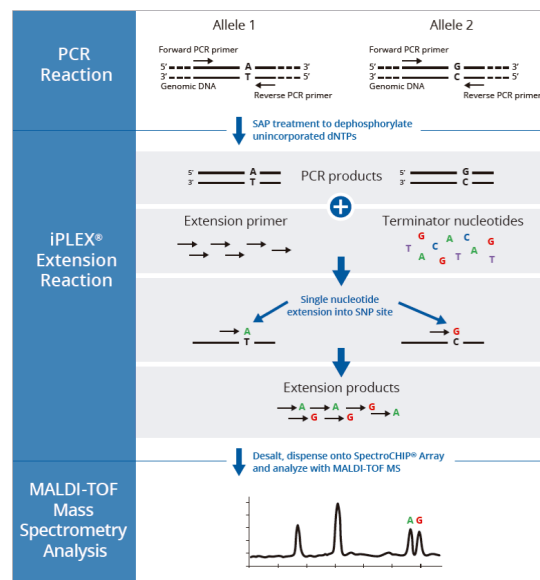


Figura 1. Proceso mediante el cual se hace la genotificación con el sistema iPLEX Assay acoplado al MassARRAY.

6.1. Diseño de oligonucleótidos para amplificación de los SNPs.

Para generar el diseño del multiplex óptimo para la amplificación de los diferentes SNPs de interés, se utilizó el software TYPER Assay Designer con los siguientes parámetros de diseño: tamaño de primers entre 15 a 30 nucleótidos, tamaño promedio de los amplicones de entre 80 y 120 pares de bases (pb), temperatura de alineamiento de 45 °C, robustez óptima de 1 en formación de bucles, dímeros y falsos primers de amplificación y extensión, rango de espectrometría de 4.3 a 9 kDa, distancia de separación entre SNPs de 30 Da.

6.2. Amplificación de los SNPs por PCR.

6.2.1. Acondicionamiento de las muestras de ADN.

Antes de iniciar la PCR, se acondicionaron las muestras de ADN extraído mediante la centrifugación a 4500 rpm por 30 s. Se descongelaron los reactivos, se les dio un vortex suave y un spin de 10 segundos antes de usarse (a excepción de las enzimas). Se utilizó la hoja de cálculo iPLEX Mastermix Calculator.xlsx para establecer la cantidad de MasterMix a usar en las reacciones de PCR, SAP y PCR de Extensión, dependiendo de la cantidad de muestras a procesar (Usar un 10 % extra de excedente).

6.2.2. Preparación del Master Mix de reacción.

Para la preparación del Master Mix de reacción se usaron las proporciones mostradas en la siguiente tabla con base al programa iPLEX MasterMix Calculator.xlsx, el cual, calculó automáticamente la cantidad de reactivo necesario para el procesamiento de un determinado número de muestras.

Componente	Por muestra (µl)	Para 96 muestras (µl)
H2O libre de ADNasas	0.8	84.48
Buffer PCR 10 X + 20 mM de MgCl2	0.5	52.8
MgCl2 (225 mM)	0.4	42.24
dNTP Mix (25 mM/dNTP)	0.1	10.56
Enzima PCR (5 U/µL)	0.2	21.12
PrimerMix PCR (500 nM/Primer)	1	105.10
TOTAL	2	211.2/1=211.2/Panel

Se aseguró de mezclar perfectamente usando la pipeta y posteriormente se dio un spin por 10 s, se dividió el total de la mezcla PCR MasterMix final en una tira de 8 tubos. Usando una pipeta multicanal, se colocó 3 µL del PCR Mastermix final en cada pozo de la placa nueva de 96 pozos.

Se agregó 2 µL de ADN en cada pozo utilizando una pipeta multicanal, depositando el material genético en el fondo del pozo de la placa. Se centrifugó la placa a 4500 rpm por 30 s asegurando una uniformidad en la mezcla de reacción. Se colocó la placa en el termociclador, el cual se creó con los parámetros de amplificación que aparecen en la siguiente tabla.

Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
95	2 min	
95	30 s	
56	30 s	45
72	1 min	
72	5 min	
4	∞	

6.3. Detección de los SNP.

Finalmente, los SNPs amplificados fueron transferidos al sistema MassARRAY y mediante espectrometría de masas fueron detectados los SNP. Este sistema analizó los datos y reportó de manera automática los genotipos encontrados para cada una de las muestras utilizadas inicialmente.

Los Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (RPBI) se eliminaron de acuerdo a lo descrito en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, el material punzocortante en los recipientes rígidos de polipropileno (rojo) y la sangre en recipientes herméticos (rojo).

Análisis estadístico

Se efectuó la descripción de las variables con las medidas de tendencia central y dispersión adecuadas. Se obtuvieron las frecuencias de los polimorfismos mediante conteo directo y se compararon entre los pacientes con y sin nefropatía diabética. Se calculó el equilibrio de Hardy-Weiberg utilizando χ^2 cuadrada. Se efectuó análisis univariado, bivariado y posteriormente se efectuó análisis multivariado pareada por sexo ajustando el efecto del polimorfismo con el tiempo de evolución de la DM2, edad, control glucémico, control tensional e índice de masa corporal.

Dentro de las medidas de asociación, se calcularon la razón de momios (OR, por sus siglas en inglés Odds Ratio) mediante regresión logística. Se obtuvieron también el intervalo de confianza (IC). Los cálculos se llevaron a cabo usando los programas SPSS v21 y EpiInfo v6.1.

6.RESULTADOS

Descripción general de la población

Participaron en el estudio un total de 400 pacientes, se dividieron en tres grupos, 200 casos (pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2) de los cuales 100 tenían presencia de nefropatía diabética (ND) y 100 no tenían dicha condición y el tercer grupo de 200 controles sanos, sin ninguna enfermedad metabólica ni sistémica.

La media aritmética de la edad de ambos grupos fue de 54.49 años (34 a 83) con un IMC de 24.57 kg/m² (34 a 83). Con relación a la variable de control glucémico compuesta por la HbA1c presentaron una media de 6.2% (4 a 14.6) y una media de glucosa en ayunas de 101.85 mg/dl (47 a 410). Con respecto al perfil lipídico, presentaron una media de LDL de 74.88 mg/dl (20 a 158), HDL de 46.95mg/dl (14 a 91) y triglicéridos de 98.24 mg/dl (43 a 406). Por último, con relación a la función renal, los 400 pacientes presentaron una media del estimado de la tasa de filtrado glomerular (eTFG) de 92.25 ml/min (6 a 125.9) calculada por la fórmula CKD-EPI, con una media de la creatinina sérica de 1.04 mg/dl (0.23 a 8.3) con una albuminuria en 24 horas de 136.11 mg (2.6 a 8000), Cuadro 1.

Descripción de la población según grupo de estudio

De acuerdo a las características clínicas de los pacientes según el grupo de estudio, se llevó a cabo un análisis bivariado con las variables cuantitativas en relación con la variable dependiente, en el cual se realizó comparación de medias con la prueba T de Student (Cuadro 2), donde se encontró que con respecto a la edad, la media aritmética en años de los casos con ND fue de 65.72 años (44 a 82) siendo mayor a comparación de los casos sin ND y los controles 64.03 (40 a 83) y 44.82 años (34 a 59), sin diferencia estadística ($p= 0.09$). En cuanto al tiempo de evolución de la enfermedad, la media aritmética de los casos con ND en años fue de 15.14 años (1 a 32) y en el grupo de casos sin ND de 11.95 (1-40), siendo mayor en los pacientes con ND pero sin diferencia estadística. Con relación al IMC este fue mayor en el grupo de casos sin ND 27.05 kg/m² (17.36 a 40.67), a comparación del grupo de casos con ND y control, 26.87 kg/m² (18.37 a 38.28) y 22.35 kg/m² (19.9 a 23.9) respectivamente con un valor $p= 0.07$. Con respecto al control glucémico, la hemoglobina glucosilada en el grupo de casos con ND 7.88% (4.5 a 14.5) fue mayor que en los grupos de casos sin ND 7.54% (5.3 a 14.6) y control 4.79% (4 a 5.2), siendo

estadísticamente significativa, $p=0.05$. Por otro lado con respecto a la glucosa en ayunas, fue mayor en el grupo de casos sin ND 128.84 mg/dl (47 a 279) a comparación con el grupo de casos con ND 127.2 mg/dl (58 a 410) y grupo control 77.34 mg/dl (64 a 88), presentando diferencia estadística con una $p=0.05$.

En el perfil lipídico, se evaluó el LDL en casos y controles presentando una media aritmética mayor en el grupo de casos sin ND 93.89 mg/dl (38 a 168) a diferencia del grupo de casos con ND 84.17 mg/dl (20 a 166) y grupo control 61.73 mg/dl (50 a 78) con un valor $p=0.08$. El HDL fue mayor en el grupo control 51.61 mg/dl (42 a 60) con respecto al grupo de casos con ND y si ND 39.05 mg/dl (14 a 91) y 44.82 mg/dl (16.5 a 75) respectivamente, $p=0.77$ y los triglicéridos presentando niveles más altos en el grupo los casos con y sin ND, 139.82 mg/dl (60 a 406) y 130.08 mg/dl (50 a 320) respectivamente a comparación con el grupo control de 64.1 mg/dl (43 a 81) con un valor $p 0.08$.

Finalmente con respecto a la función renal, el grupo de casos con ND presentaron un eTFG menor de 50.86 ml/min (6 a 112) a comparación del grupo de casos sin ND 95.21 ml/min (63 a 124) y grupo control 110.12 ml/min (74.6 a 125.9), $p 0.03$. La creatinina sérica de igual manera fue mayor en el grupo de casos con ND 2.12 mg/dl (0.39 a 8.3) a diferencia del grupo de casos sin ND y grupo control, 0.71 mg/dl (0.23 a 1.12) y 0.70 mg/dl (0.4 a 0.9) respectivamente, $p 0.02$. Por último al comparar la albuminuria en 24 hrs también fue mayor en el grupo de casos con ND 496.38 mg (5.2 a 8000) a comparación con el grupo de casos sin ND 10.96 mg (2.6 a 27) y grupo control 7.85 mg (3 a 16.7), $p 0.03$.

De igual manera, se llevó a cabo un análisis bivariado con las variables cualitativas, donde se realizó un análisis con todas las variables dicotómicas en función de la variable dependiente utilizando comparación de proporciones, donde se calculó la X^2 de Pearson y se observó que cumplieran el supuesto de los valores esperados (igual o mayor a 5) (Cuadro 3), encontrándose que con respecto a la variable sexo, 199 pacientes (49.75%) fueron hombres y 201 (50.25%) mujeres, predominando más en los grupos de casos sin ND, 58 mujeres (58%) y grupo control 108 mujeres (54%) a comparación con el grupo de de casos con ND, hombres 65 (65%), $p 0.18$.

Con relación al antecedente de hipertensión arterial sistémica fue mayor en el grupo de casos con ND con 86 pacientes (86%) a comparación del grupo de casos sin ND 77 (77%), representando una variable estadísticamente significativa ($p=0.01$).

Al compararse el tabaquismo y alcoholismo, ambas variables en los 400 pacientes, el 75% no tenían dichos hábitos, estando ausente en los 3 grupos y siendo estadísticamente significativas, $p < 0.001$. Con respecto a las complicaciones microvasculares de la diabetes tipo 2, retinopatía y neuropatía, la retinopatía se presentó en mayor proporción en el grupo de casos con ND (61%) a comparación con el grupo de casos sin ND (6%), $p < 0.03$. De igual manera la neuropatía estuvo presente en mayor número en el grupo de casos con ND a diferencia del grupo de casos sin ND, 30% vs 11% valor $p < 0.02$, respectivamente.

Descripción de los fenotipos y reportes de la histopatología renal en la población con nefropatía diabética.

En el cuadro 4, se describió en el grupo de pacientes con nefropatía diabética, el fenotipo y reportes histopatológicos de la biopsia renal, encontrándose que el fenotipo más frecuente fue el clásico (fenotipo 1) en un 38%, siendo el menos prevalente el fenotipo no albuminúrico (fenotipo 4). Con respecto al reporte de la biopsia renal, con relación a los 4 clases histopatológicas de la nefropatía diabética, fue más frecuente la clase III (glomeruloesclerosis nodular) con un 47% y el que se presentó en menor proporción fue la clase I (engrosamiento de la membrana basal glomerular aislada).

Distribución de alelos, genotipos y haplotipos de los genes de la *ECA* y *FRMD3*

Se estudiaron un total de 3 polimorfismos de los genes de la *ECA* (rs179975) y *FRMD3* (rs1888747 y rs10868025) que se muestran en el Cuadro 5. La asociación de los alelos y los genotipos en la población estudiada con DT2 con y sin nefropatía diabética y controles sanos, los cuales se muestran se muestran en los cuadros 6 y 7 respectivamente. Los alelos silvestres fueron los más frecuentes en los casos tanto con como sin nefropatía diabética.

Con relación a los alelos de los 3 polimorfismos estudiados, todos ellos se asociaron con susceptibilidad a la presencia de nefropatía diabética, dentro de estos se encuentran del gen de la *ECA*, el alelo A del SNP rs179975 con un OR 2.3; CI95%: 1.45-3.2, $p=0.003$, y del gen *FRMD3*, el alelo A del SNP rs1888747A con un OR 1.54; CI95%: 1.13-2.3, $p=0.0005$ y el alelo G del SNP rs10868025 con un OR 1.87; CI95%: 1.29-2.33, $p=0.0009$, siendo estadísticamente significativos, con una frecuencia mayor en el grupo de casos con nefropatía diabética del 80%, 88% y 73% de

acuerdo a los SNPs respectivamente antes mencionados y con sus contrapartes correspondientes que fueron de protección.

Con respecto a los genotipos de los 3 polimorfismos, se encontró asociación con frecuencias estadísticamente significativas en cada uno de ellos, mostrando los genotipos rs179975CA con un OR 4.76; CI95%: 3.15-5.56, $p=0.0004$, rs1888747GA con un OR 2.17; CI95%: 1.38-3.60, $p=0.03$ y rs10868025GC con un OR 2.66 CI95%: 1.22-3.15, $p=0.03$, siendo mayores las frecuencias en el grupo de casos con nefropatía diabética, con 85%, 90% y 90% respectivamente de los polimorfismos antes mencionados. Todos los SNPs estudiados se encontraron en el equilibrio de Hardy-Weinberg. En todas las comparaciones de genotipos de los SNPs, prevaleció el modelo codominante. La tasa de éxito general de la técnica de tipificación fue del 98.9%. El software Haploview v4.2 estableció 7 haplotipos para la población estudiada de pacientes con nefropatía diabética, (Cuadro 8). Cuando se analizaron a todos los sujetos, se encontró que el haplotipo CGAC del gen de la *ECA* fue de susceptibilidad (OR;5.87; CI95%: 2.38-14.5, $p=0.05$) al igual que haplotipo TCAC, (OR, 17.31; CI95%: 2.08-19.4, $p=0.013$), mientras que los haplotipos CCGC (OR, 0.54; CI95%: 0.36-0.80, $p=0.002$) y CCGG (OR, 0.59; CI95%: 0.39-0.89, $p=0.012$) fueron de protección mostrando significancia estadística.

Resultados obtenidos en la regresión logística multinomial

Se realizó un modelo de regresión logística multinomial, donde se analizaron todas las variables (cualitativas o cuantitativas) que tuvieron un nivel de significancia cuya $p < 0.05$. Los resultados fueron analizados a través del nivel de significancia de Wald, OR e intervalo de confianza (Cuadro 9). En la regresión logística, la variable dependiente fue la presencia o ausencia de nefropatía diabética, donde las variables independientes clínicas estudiadas estadísticamente significativas fueron la edad (OR, 1.97; CI95%: 1.53-2.01, $p=0.01$), microalbuminuria (OR, 1.99; CI95%: 1.34-2.11, $p=0.0005$), retinopatía (OR, 3.02; CI95%: 1.87-3.89, $p=0.005$) y hemoglobina glucosilada (OR, 1.34; CI95%: 1.02-1.76, $p=0.001$). Dentro de los polimorfismos analizados en la regresión logística, resultaron rs179975 CA (OR, 6.2; CI95%: 1.15-7.48, $p=0.03$), rs1888747 GA (OR, 6.6; CI95%: 4.60-8.45, $p=0.002$) y rs10868025 GC (OR, 4.1; CI95%: 2.40-5.60, $p=0.002$) con un nivel de significancia de Wald de 4.51, 9.51 y 7.56 respectivamente.

Desequilibrio de ligamiento (LD)

El gráfico generado en Haploview (v4.2) para determinar el LD (D') para los 3 SNPs e los 2 genes estudiados, se presenta en la Figura 9. El cual indica que los SNPs rs179975, rs1888747 y rs10868025, parecen ser casi independientes entre sí, (Cuadro 4).

7.DISCUSIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) afecta aproximadamente al 15% de la población y la enfermedad renal diabética (ERD) o también llamada nefropatía diabética (ND) es la causa más común de ERC a nivel mundial 1,2 Aproximadamente el 30 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y el 40 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) desarrollan ERC.1 Debido a que los riesgos de mortalidad y morbilidad aumentan con la progresión de la ERC, es imperativo priorizar la prevención, reconocimiento y manejo de la ND en el entorno de atención primaria.3

Los riesgos de desarrollo y progresión de la ND dependen principalmente de la duración de la diabetes, el control de la glucemia y el control de la hipertensión.7,8. Para la DM2, aproximadamente el 30 % de los pacientes desarrollan microalbuminuria dentro de los 10 años posteriores al diagnóstico de diabetes, y aproximadamente el 5 % progresa a nefropatía manifiesta cada año.7

Una necesidad clínica es identificar biomarcadores novedosos que tengan el potencial de diagnosticar y estratificar el riesgo de ERC en pacientes con diabetes antes que las técnicas actuales. De hecho, se han propuesto biomarcadores individuales genéticos, denominados polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que podrían representar un marcador potencial no invasivo para el diagnóstico temprano de la ND 27.

De tal manera, los genes implicados en el sistema renina-angiotensina como el gen FRMD3, se han sugerido como posibles predisposiciones genéticas para el desarrollo de la nefropatía diabética. Publicaciones anteriores sugieren que la predisposición genética juega un papel en el desarrollo de la nefropatía diabética 30–33.

La enzima convertidora de angiotensina-I (ECA) y el polimorfismo de inserción (I)/delección (D) como los polimorfismos del gen FRMD3, se han estudiado ampliamente con enfermedades renales

35 y complicaciones cardiovasculares de la nefropatía diabética 36,37, principalmente en regiones de Europa y Asia mas no en America Latina.

El objetivo de este estudio fue determinar la asociación de los polimorfismos de los genes de la Enzima Convertidora de Angiotensina y FRMD3 con el riesgo de desarrollar nefropatía diabética en pacientes con diabetes tipo 2, representando este el primer estudio de SNPs de estos dos genes en América latina y por supuesto en población mexicana.

Utilizamos un diseño de casos y controles basado en la población en una muestra mexicana, centrándonos en 3 SNPs, 2 del gen FRMD3 (rs1888747 y rs10868025) y 1 del gen de la ECA (rs179975).

En nuestro estudio, la evaluación de los polimorfismos antes mencionados de ambos genes, presentaron una importante asociación de susceptibilidad con la presencia de nefropatia diabética, de los SNPs estudiados, se encontraron el alelo alelo A rs179975, el alelo A rs1888747 y el alelo G rs10868025 con una fuerza de asociación importante estadísticamente significativa y con frecuencias del 80%, 88% y 73% respectivamente, siendo más altas que las reportadas en estudios de poblaciones asiáticas y europeas.

Al evaluar la frecuencia genotípica, se encontró asociación estadísticamente significativa en cada uno de los 3 polimorfismos, de esta manera los pacientes con los genotipos rs179975CA (OR 4.76; CI95%: 3.15-5.56, p=0.0004), rs1888747GA (OR 2.17; CI95%: 1.38-3.60, p=0.03) y rs10868025GC (OR 2.66; CI95%: 1.22-3.15, p=0.03), tuvieron mayor susceptibilidad con la presencia de nefropatia diabética, con frecuencias de 85%, 90% y 90% respectivamente de los polimorfismos antes mencionados, que comparando las frecuencias con los estudios previamente publicados en otras regiones del mundo fuera de America, estas fueron más altas que las reportadas.

Por último, al realizar el análisis de haplotipos se encontraron 7, dentro de los cuáles 4 de ellos fueron estadísticamente significativos, 2 de estos fueron haplotipos de protección, CCGC y CCGG y 2 de riesgo, CGAC y TCAC.

De esta manera, al realizar el modelo de regresión logística multinomial, tomando en cuenta la presencia de nefropatia diabética como variable dependiente, se encontraron dentro de las variables clínicas con mayor significancia la edad del paciente, la hemoglobina glucosilada, la microalbuminuria y la retinopatía diabética, que son las variables con mayor asociación para el desarrollo de otras complicaciones microvasculares en el paciente diabético como la nefropatia y

que refuerza lo que ya es conocido en la literatura mundial^{7,8}, sin embargo resalta la presencia de los tres polimorfismos estudiados con una importante fuerza de asociación, rs179975 CA, rs1888747 GA y rs10868025 GC, que de forma general estarían involucrados en la aparición de la nefropatía diabética y que probablemente actuarían como un factor genético independiente de algún otro factor clínico o epidemiológico que impulsaría el desarrollo de esta complicación.

Estos SNPs ya se habían identificado en poblaciones de los continentes de Europa y Asia como factores de riesgo asociados con la aparición de la nefropatía diabética, sin embargo no se había realizado dicho estudio en población Latina, por esta razón creemos que nuestros resultados, marcarán la pauta para realizar estudios más grandes y en diferentes poblaciones, buscando encontrar una asociación con la presencia de la nefropatía diabética y que podría contrastar con los resultados de otras poblaciones no semejantes a la nuestra debido a las diferencias étnicas, resaltando las distintas variantes genéticas en las múltiples regiones geográficas.

8.CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demostró la asociación de variantes genéticas bien establecidas de los polimorfismos de los genes de la *ECA* y *FRMD3* con la presencia de nefropatía diabética, mostrando que estos SNPs, específicamente rs179975 CA, rs1888747 GA y rs10868025 GC, pueden representar marcadores genéticos importantes en el desarrollo de esta complicación de la enfermedad y pudieran ser un factor predisponente debido a la alta frecuencia y fuerza de asociación que se observaron en nuestra población estudiada, representando este el primer estudio en América Latina. Esto sugiere que existe una alta susceptibilidad de nuestra población a desarrollar nefropatía diabética, que a mediano o largo plazo podrían representar la causa de muerte en este sector. Es importante reproducir este estudio en las diferentes áreas geográficas con el fin de poner de manifiesto las variaciones y la gran heterogeneidad étnica de los individuos, ya que estos estudios de los SNPs asociados a nefropatía diabética a nivel mundial han cobrado fuerza, por lo que creemos que de esta manera se podrá contar con un grupo de polimorfismos que se puedan utilizar en un futuro cercano como una herramienta pronóstica en el control de esta patología.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. United States Renal Data System. 2018 USRDS annual data report: CKD in the general population. Bethesda, MD: United States Renal Data System; 2018. p. 1–28.
2. National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guideline for diabetes and CKD: 2012 update. *Am J Kidney Dis* 2012;60(5):850–86.
3. United States Renal Data System. Bethesda (MD). USRDS 2018 annual data report - Chapter 5: Mortality. United States Ren Data Syst 2018 USRDS Annu data Rep Epidemiol kidney Dis United States Natl Institutes Heal Natl Inst Dia- betes Dig Kidney Dis, vol. 2, 2018. p. 411–26.
4. Toth-Manikowski S, Atta MG. Diabetic kidney disease: Pathophysiology and therapeutic targets. *J Diabetes Res* 2015;2015.
5. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2011;107(9):1058–70.
6. Vallon V, Komers R. Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *Compr Physiol* 2011; 1(3):1175–232.
7. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003;63(1):225–32.
8. Gæde P, Tarnow L, Vedel P, et al. Remission to normoalbuminuria during multifactorial treatment preserves kidney function in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(11):2784–8.
9. Costacou T, Ellis D, Fried L, et al. Sequence of Progression of Albuminuria and Decreased GFR in Persons With Type 1 Diabetes: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis* 2007;50(5):721–32.
10. Kunzelman CL, Knowler WC, Pettitt DJ, et al. Incidence of proteinuria in type 2 diabetes mellitus in the Pima Indians. *Kidney Int* 1989;35(2):681–7.
11. Nelson RG, Bennett PH, Beck GJ, et al. Development and Progression of Renal Disease in Pima Indians with Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1996;335(22):1636–42.
12. De Zeeuw D, Remuzzi G, Parving H-H, et al. Albuminuria, a Therapeutic Target for Cardiovascular Protection in Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy. *Circulation* 2004;110(8):921–7.
13. American Diabetes Association. 11. Microvascular complications and foot care: Standards of Medical Care in Diabetes - 2019. *Diabetes Care* 2019;42:S124–38.
14. Molitch ME, Adler AI, Flyvbjerg A, et al. Diabetic kidney disease: a clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2015;87(1):20–30.
15. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013;3(1):1–150.
16. United States Renal Data System. USRDS Annual Data Report: Incidence, prevalence, patient characteristics, and treatment modalities. *Am J Kidney Dis* 2018; 59(1 SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.10.027>.

17. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2019 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes* 2019;37(1):11–34.
18. Gillespie BW, Morgenstern H, Hedgeman E, et al. Nephrology care prior to end-stage renal disease and outcomes among new ESRD patients in the USA. *Clin Kidney J* 2015;8(6):772–80.
19. Mogensen CE, Christensen CK & Vittinghus E The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 32 Suppl 2, 64–78 (1983).
20. De Zeeuw D, Parving HH & Henning RH Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 17, 2100–2105 (2006).
21. Thomas MC, et al. Nonalbuminuric renal impairment in type 2 diabetic patients and in the general population (national evaluation of the frequency of renal impairment co-existing with NIDDM [NEFRON] 11). *Diabetes care* 32, 1497–1502 (2009).
22. Perkins BA, et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *The New England journal of medicine* 348, 2285–2293 (2003).
23. Retnakaran R, et al. Risk factors for renal dysfunction in type 2 diabetes: U.K. Prospective Diabetes Study 74. *Diabetes* 55, 1832–1839 (2006).
24. Molitch ME, et al. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes care* 33, 1536–1543 (2010).
25. Adler AI, et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney international* 63, 225–232 (2003).
26. Oshima M, Shimizu M, Yamanouchi M, Toyama T, Hara A, Furuichi K, Wada T. Trajectories of kidney function in diabetes: a clinicopathological update. *Nat Rev Nephrol*, 11:740-750 (2015).
27. McClelland A, Hagiwara S & Kantharidis P Where are we in diabetic nephropathy: microRNAs and biomarkers? *Current opinion in nephrology and hypertension* 23, 80–86 (2014).
28. A. F. Amos, D. J. McCarty, and P. Zimmet, “The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010,” *Diabetic Medicine*, vol. 14, no. S5, pp. S7– S85, 1997.
29. L. Tarnow, “Genetic pattern in diabetic nephropathy,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 11, no. 3, pp. 410–412, 1996.
30. E. R. Seaquist, F. C. Goetz, S. Rich, and J. Barbosa, “Familial clustering of diabetic kidney disease: evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy,” *New England Journal of Medicine*, vol. 320, no. 18, pp. 1161–1165, 1989.
31. K. Borch-Johnsen, K. Norgaard, E. Hommel et al., “Is diabetic nephropathy an inherited complication?” *Kidney International*, vol. 41, no. 4, pp. 719–722, 1992.
32. D. J. Pettitt, M. F. Saad, P. H. Bennett, R. G. Nelson, and W. C. Knowler, “Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2(non-insulin- dependent) diabetes mellitus,” *Diabetologia*, vol. 33, no. 7, pp. 438–443, 1990.

- 33.B. I. Freedman, A. B. Tuttle, and B. J. Spray, "Familial predisposition to nephropathy in African-Americans with non-insulin-dependent diabetes mellitus," *The American Journal of Kidney Diseases*, vol. 25, no. 5, pp. 710–713, 1995.
- 34.A. S. Krolewski, A. Doria, J. Magre, J. H. Warram, and D. Housman, "Molecular genetic approaches to the identification of genes involved in the development of nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 3, no. 4, pp. S9–S17, 1992.
- 35.C. R. K. Dudley, B. Keavney, I. M. Stratton, R. C. Turner, and P. J. Ratcliffe, "U.K. Prospective Diabetes Study XV: relationship of renin-angiotensin system gene polymorphisms with microalbuminuria in NIDDM," *Kidney International*, vol. 48, no. 6, pp. 1907–1911, 1995.
- 36.T. Fujisawa, H. Ikegami, G.-Q. Shen et al., "Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction, but not with retinopathy or nephropathy, in NIDDM," *Diabetes Care*, vol. 18, no. 7, pp. 983–985, 1995.
- 37.B. Rigat, C. Hubert, F. Alhenc-Gelas, F. Cambien, P. Corvol, and F. Soubrier, "An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels," *Journal of Clinical Investigation*, vol. 86, no. 4, pp. 1343–1346, 1990.
- 38.M. J. A. P. Daemen, D. M. Lombardi, F. T. Bosman, and S. M. Schwartz, "Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall," *Circulation Research*, vol. 68, no. 2, pp. 450–456, 1991.
- 39.J. S. Powell, J.-P. Clozel, R. K. M. Muller et al., "Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury," *Science*, vol. 245, no. 4914, pp. 186–188, 1989.
- 40.F. Alhenc-Gelas, J. Richard, D. Courbon, J. M. Warnet, and P. Corvol, "Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters," *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 117, no. 1, pp. 33–39, 1991.
- 41.F. Cambien, F. Alhenc-Gelas, B. Herbeth et al., "Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study," *The American Journal of Human Genetics*, vol. 43, no. 5, pp. 774–780, 1988.
- 42.L. Tiret, B. Rigat, S. Visvikis et al., "Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels," *The American Journal of Human Genetics*, vol. 51, no. 1, pp. 197–205, 1992.
- 43.J. Egido and A. Ortiz, "ACE gene polymorphism and the prognosis and treatment of overt diabetic nephropathy," *Nature Clinical Practice Nephrology*, vol. 4, no. 9, pp. 472–473, 2008.
- 44.M. Marre, P. Bernadet, Y. Gallois et al., "Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications," *Diabetes*, vol. 43, no. 3, pp. 384–388, 1994.
- 45.D.P.K.Ng,B.C.Tai,D.Koh,K.W.Tan,andK.S.Chia, "Angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and its association with diabetic nephropathy: a meta-analysis of studies reported between 1994 and 2004 and comprising 14,727 subjects," *Diabetologia*, vol. 48, no. 5, pp. 1008–1016, 2005.
- 46.F. Wang, Q. Fang, N. Yu et al., "Association between genetic polymorphism of the angiotensin-

converting enzyme and diabetic nephropathy: a meta-analysis comprising 26,580 subjects," *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, vol. 13, no. 1, pp. 161–174, 2012.

47. Buffon MP, Sortica DA, Gerchman F, Crispim D, Canani LH. FRMD3 gene: its role in diabetic kidney disease. A narrative re- view. *Diabetol Metab Syndr* 2015;7:118.
48. Buffon MP, Carpena MP, Sortica DA, et al. rs1888747 polymorphism in the FRMD3 gene, gene and protein expression: role in diabetic kidney disease. *Diabetol Metab Syndr* 2016;8:3.
49. Pezzolesi MG, Krolewski AS. Diabetic nephropathy: is ESRD its only heritable phenotype? *J Am Soc Nephrol* 2013;24:1505–1507.
50. Pezzolesi MG, Krolewski AS. The genetic risk of kidney disease in type 2 diabetes. *Med Clin North Am* 2013;97:91–107.
51. Pezzolesi MG, Poznik GD, Mychaleckyj JC, et al. Genome-wide association scan for diabetic nephropathy susceptibility genes in type 1 diabetes. *Diabetes* 2009;58:1403–1410.
52. Maeda S, Araki S, Babazono T, et al. Replication study for the association between four Loci identified by a genome-wide association study on European American subjects with type 1 diabetes and susceptibility to diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* 2010;59:2075–2079.
53. Mooyaart AL, Valk EJ, van Es LA, et al. Genetic associations in diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Diabetologia* 2011;54:544–553.
54. Kreepala C, Panpruang P, Yodprom R, Piyajarawong T, Wattanavaekin K, Danjitrong T, Phuthomdee S. Manifestation of rs1888747 polymorphisms in the FRMD3 gene in diabetic kidney disease and diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Kidney Res Clin Pract.* 2021 40(2):263-271.

10. TABLAS

Cuadro 1. Distribución de las Características Clínicas en 400 sujetos atendidos en el CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de Abril a Diciembre de 2022.

Variables de Estudio	Media Aritmética	Mediana	Valor Mínimo-Máximo
Edad (años)	54.49	52	34 a 83
IMC kg/m²	24.57	23.05	17.36 a 40.67
eTFG (ml/min)	92.25	102.1	6 a 125.9
Creatinina sérica (mg/dl)	1.04	0.75	0.23 - 8.3
Microalbuminuria (mg en 24 hrs)	136.11	9.1	2.6 a 8000
HbA1c (%)	6.2	5.1	4.0 a 14.6
Glucosa en ayuno (mg/dl)	101.85	82	47 a 410
LDL (mg/dl)	74.88	66	20 a 168
HDL (mg/dl)	46.95	49	14 a 91
Triglicéridos (mg/dl)	98.24	73	43 a 406

IMC: Índice de masa corporal. eTFG: Estimado de la tasa de filtrado glomerular. HbA1C: Hemoglobina glucosilada. LDL: Colesterol de baja densidad. HDL: Colesterol de alta densidad.

Cuadro 2. Distribución de las Características Clínicas en 400 sujetos atendidos en el CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de Abril a Diciembre de 2022.

Variables de Estudio	Caso sin ND (n=100)	Caso con ND (n=100)	Control (n=200)	Prueba Estadística Nivel de Significancia
	Media Aritmética (Min-Max)	Media Aritmética (Min-Max)	Media Aritmética (Min-Max)	
	Mediana	Mediana	Mediana	
Edad (años)	64.03 (40 - 83)	65.72 (44 - 82)	44.82 (34 - 59)	T-Student= 1.45 P = 0.09
	64	67	44	
Tiempo de evolución de la DT2 (años)	11.95 (1 - 40)	15.14 (1 - 32)	N/A	T-Student= -1.41 P =0.09
	10	15		
IMC kg/m ²	27.05 (17.36 - 40.67)	26.87 (18.37 - 38.28)	22.35 (19.9 - 23.9)	T-Student=6.21 P =0.07
	26.73	25.95	22.40	
eTFG (ml/min)	95.21 (63 - 124)	50.86 (6 - 112)	110.12 (74.6 - 125.9)	T-Student= 2.55 P = 0.03
	96.85	45	112.75	
Creatinina sérica (mg/dl)	0.71 (0.23 - 1.12)	2.12 (0.39 - 8.3)	0.70 (0.4 - 0.9)	T-Student= 2.91 P = 0.02
	0.71	1.32	0.70	
Microalbuminuria (mg en 24 hrs)	10.96 (2.6 - 27)	496.38 (5.2-8000)	7.85 (3 - 16.7)	T-Student= 2.67 P = 0.03
	9.65	119.5	7.65	
HbA1c (%)	7.54 (5.3 - 14.6)	7.88 (4.5 - 14.5)	4.79 (4 - 5.2)	T-Student=1.67 P =0.05
	6.95	7.4	4.9	

Glucosa en ayuno (mg/dl)	128.84 (47 - 279) 117	127.2 (58 - 410) 103	77.34 (64 - 88) 76	T-Student= 2.11 P =0.05
LDL (mg/dl)	93.89 (38-168) 89	84.17 (20 - 166) 83	61.73 (50 - 78) 62.5	T-Student=-4.2 P =0.08
HDL (mg/dl)	44.82 (16.5 - 75) 46	39.05 (14 - 91) 38.5	51.61 (42 - 60) 51.5	T-Student=-0.28 P =0.77
Triglicéridos (mg/dl)	130.08 (50 - 320) 127	139.82 (60 - 406) 126.5	64.1 (43 - 81) 64.5	T-Student=-1.71 P =0.08

n: Número de pacientes. IMC: Índice de masa corporal. eTFG: Estimado de la tasa de filtrado glomerular. HbA1C:Hemoglobina glucosilada. LDL: Colesterol de baja densidad. HDL: Colesterol de alta densidad. Min: Valor mínimo. Max: Valor máximo. N/A: No aplica. Nivel de significancia en $p \leq 0.05$.

Cuadro 3. Distribución de las Características Clínicas en 400 sujetos, según grupo de estudio, atendidos en el CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de Abril a Diciembre de 2022.

Variables de Estudio	Población 400 n (%)	Caso sin ND 100 n (%)	Caso con ND 100 n (%)	Control 200 n (%)	Prueba Estadística Nivel de Significancia
Sexo					
▪ Masculino	199 (49.75%)	42 (42%)	65 (65%)	92 (46%)	X ² = 1.72 P = 0.18
▪ Femenino	201 (50.25%)	58 (58%)	35 (35%)	108 (54%)	
HAS					
▪ Sí	163 (81.5%)	77 (77%)	86 (86%)	N/A	X ² = 13.62 P = 0.01
▪ No	37 (18.5%)	23 (23%)	14 (14%)		
Tabaquismo					
▪ Sí	100 (25%)	36 (36%)	42 (42%)	22 (11 %)	X ² = 15.78 P = 0.001
▪ No	300 (75%)	64 (64%)	58 (58%)	178 (89 %)	
Alcoholismo					
▪ Sí	100 (25%)	30 (30%)	40 (40%)	30 (15 %)	X ² = 15.78 P = 0.001
▪ No	300 (75%)	70 (70%)	60 (60%)	170 (85 %)	

Retinopatía					
• Sí	67 (33.5%)	6 (6%)	61 (61%)	N/A	X ² = 19.23 P = 0.03
• No	133 (66.5%)	94 (94%)	39 (39%)		
Neuropatía					
• Sí	41 (20.5%)	11 (11%)	30 (30%)	N/A	X ² = 16.51 P = 0.02
• No	159 (79.5%)	89 (89%)	70 (70%)		

n: Número de pacientes. HAS: Hipertensión arterial sistémica. N/A: No aplica. Valor de p con chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en $p \leq 0.05$.

Cuadro 4. Fenotipo y reporte de la histopatología renal en pacientes con nefropatía diabética, atendidos en el CMN 20 de Noviembre del ISSSTE de Abril a Diciembre de 2022.

Fenotipo / Biopsia renal	Nefropatía diabética 100 n (%)
• Fenotipo 1	38 (38%)
• Fenotipo 2	25 (25%)
• Fenotipo 3	31 (31%)
• Fenotipo 4	6 (6%)
Biopsia renal	
• Clase I	7 (7%)
• Clase II	26 (26%)
• Clase III	47 (47%)
• Clase IV	20 (20%)

n: Número de pacientes. Fenotipo 1: Clásico. Fenotipo 2: Regresión de la albuminuria. Fenotipo 3: Disminución rápida de la tasa de filtrado glomerular. Fenotipo 4: No albuminúrico. Clase I: Engrosamiento de MBG aislada. Clase II: Expansión mesangial (> 25% del mesangio). Clase III: Glomeruloesclerosis nodular (Nódulos de Kimmelstiel-Wilson) (esclerosis < 50% de los glomérulos). Clase IV: Glomeruloesclerosis > 50% de los glomérulos analizados.

Cuadro 5. Información de los SNPs estudiados*

Gen	SNP	Cromosoma	Posición en el gen	Alelos reportados	Ubicación
<i>ECA</i>	rs179975	6	16360092	A>C / A>G / A>T	Intrón
<i>FRMD3</i>	rs1888747	9	83540636	A>G	5' UTR
	rs10868025	9	83549261	G>C	5' UTR

*Información tomada de la base de datos dbSNP encontrada en el NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>.

Cuadro 6. Frecuencia alélica de los polimorfismos de los genes de la ECA y FRMD3.

Gen	Alelos	Casos con ND (%)	Casos sin ND (%)	Controles (%)	<i>p</i>	OR (95%CI) *
<i>ECA</i>	<i>rs179975A</i>	80	18	2	0.003	2.3 (1.45-3.2)
	<i>rs179975C</i>	20	82	98	0.03	0.82 (0.76-0.87)
<i>FRMD3</i>	<i>rs1888747A</i>	88	11	1	0.0005	1.54 (1.13-2.30)
	<i>rs1888747G</i>	12	89	99	0.0005	0.65 (0.43-0.97)
<i>FRMD3</i>	<i>rs10868025G</i>	73	25	2	0.0009	1.87 (1.29-2.33)
	<i>rs10868025C</i>	27	75	98	0.0009	0.78 (0.59-0.91)

* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Caracteres en negritas y cursivas indican asociación. Caracteres en negritas indican tendencia de asociación. Valor de *p* con chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en $p \leq 0.05$.

Cuadro 7. Frecuencia genotípica de los polimorfismos de los genes de los genes de la ECA y FRMD3.

Gen	Genotipos	Casos con ND (%)	Casos sin ND (%)	Controles (%)	<i>p</i>	OR (95%CI) *
<i>ECA</i>	<i>rs179975AA</i>	12	20	60	0.000₄	0.04 (0.02-0.6)
	<i>rs179975CA</i>	85	40	5	0.000₄	4.76 (3.15-5.56)
	<i>rs179975CC</i>	3	40	35	0.72	1.87 (0.12-3.18)
<i>FRMD3</i>	<i>rs1888747AA</i>	5	10	90	0.003	0.35 (0.18-0.64)
	<i>rs1888747GA</i>	90	35	3	0.03	2.17 (1.38-3.60)
	<i>rs1888747GG</i>	5	55	7	0.89	4.07 (0.45-5.10)
<i>FRMD3</i>	<i>rs10868025GG</i>	5	6	95	0.04	0.64 (0.31-0.85)
	<i>rs10868025GC</i>	90	39	3	0.03	2.66 (1.22-3.15)
	<i>rs10868025CC</i>	5	55	2	0.33	0.09 (0.4-3.21)

* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Caracteres en negritas y cursivas indican asociación. Caracteres en negritas indican tendencia de asociación. Valor de *p* con chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en $p \leq 0.05$.

Cuadro 8. Frecuencia de haplotipos de los polimorfismos de los genes de los genes de la ECA y FRMD3.

Gen	Haplotipos	Casos (%)	Controles (%)	p	OR (95%CI) *
<i>ECA</i>	<u>CCGC</u>	<u>36.40</u>	<u>51.50</u>	<u>0.002</u>	<u>0.54 (0.36-0.80)</u>
	<u>CCGG</u>	<u>30.00</u>	<u>42.00</u>	<u>0.012</u>	<u>0.59 (0.39-0.89)</u>
	<i>CGAC</i>	<i>15.20</i>	<i>2.90</i>	<i>0.05</i>	<i>5.87 (2.38-14.5)</i>
<i>FRMD3</i>	<i>CCAG</i>	4.10	4.10	0.73	1.36 (0.46-3.99)
	<i>CGGC</i>	4.70	4.70	0.73	6.82 (0.86-7.40)
	<i>TCAC</i>	<i>3.90</i>	<i>0.01</i>	<i>0.013</i>	<i>17.31 (2.08-19.4)</i>
	<i>CCAC</i>	3.00	3.00	0.40	11.28 (0.02-58.51)

* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Caracteres en negritas y cursivas indican asociación. Caracteres en negritas y subrayado indican protección. Valor de p con chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en $p \leq 0.05$.

Cuadro 9. Resultados obtenidos en la regresión logística multinomial.

Variable	Error estándar	Wald	p	OR	95% C.I. para OR	
					Inferior	Superior
Edad	0.02	2.65	0.01	1.97	1.53	2.01
Microalbuminuria	0.01	12.04	0.0005	1.99	1.34	2.11
Retinopatía	0.01	7.75	0.005	3.02	1.87	3.89
HbA1c	0.14	4.43	0.001	1.34	1.02	1.76
rs179975CA	0.86	4.51	0.03	6.20	1.15	7.48
rs1888747GA	1.36	9.51	0.002	6.60	4.60	8.45
rs10868025GC	0.85	7.56	0.002	4.1	2.4	5.6

La variable dependiente para este análisis fue nefropatía diabética. Variables independientes utilizadas para el análisis: Edad del Paciente (años), Género (mujer, hombre), IMC (kg/m²), Hipertensión (presente, ausente), Hemoglobina Glicosilada (%), Glucosa en ayunas (mg/dL), Tabaquismo (presente, ausente), Alcoholismo (presente, ausente), LDL (mg/dL), HDL (mg/dL), TAG (mg/dL), Microalbuminuria (mg en 24 hrs), eTFG (ml/min), Creatinina sérica (mg/dl), Retinopatía (presente, ausente), Neuropatía (presente, ausente), rs179975, rs1888747 y rs10868025.

11. FIGURAS

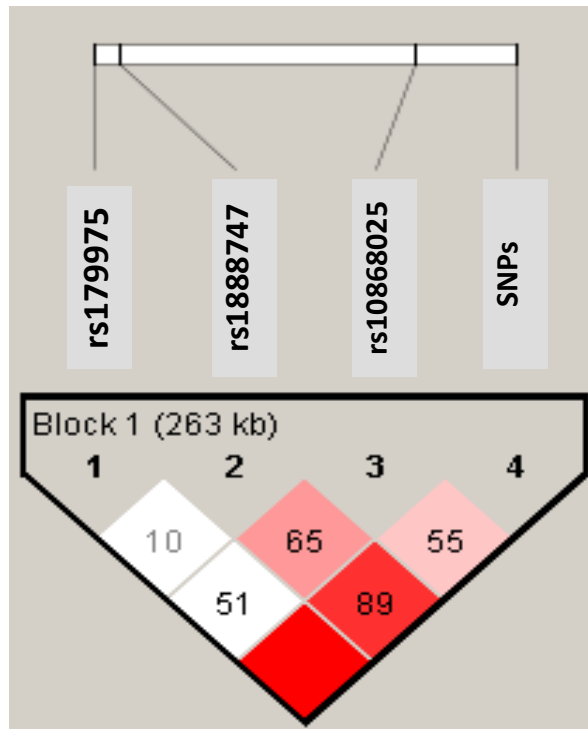


Figura 1. Desequilibrio de ligamiento (LD) entre los SNPs de la *ECA* y *FRMD3*, genotificados en la nefropatía diabética. La gráfica de LD fue creada por HAPLOVIEW 4.2.