



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO  
CHÁVEZ”**

**TESIS**

**“PRESENCIA DE POLIMORFISMOS rs833060 rs25648 DEL**

**GEN DE FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL**

**VASCULAR (VEGF) Y SU ASOCIACIÓN CON**

**NEFROPATIA DIABETICA DE EVOLUCIÓN**

**ACELERADA”**

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

**P R E S E N T A:**

**Dr. Juan Alfredo Palma Ramirez**

**TUTOR:**

**Dr. Francisco Rodríguez Castellanos**

**México, D.F a 15 de Octubre de 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO FACULTAD DE MEDICINA

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”**

TESIS DE TITULACIÓN NEFROLOGÍA

**TÍTULO:**

**“PRESENCIA DE POLIMORFISMOS rs833060 rs25648 DEL GEN DE FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) Y SU ASOCIACIÓN CON NEFROPATIA DIABETICA DE EVOLUCIÓN ACELERADA”**

**PRESENTA:**

DR. JUAN ALFREDO PALMA RAMIREZ

RESIDENTE DE LA ESPECIALIDAD EN NEFROLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

**JEFE DE SERVICIO DE NEFROLOGÍA**

DRA. MAGDALENA MADERO RÓVALO

**DIRECTOR DE ENSEÑANZA**

DR. JOSÉ FERNANDO GUADALAJARA BOO

**ASESOR DE TESIS:**

DR. FRANCISCO RODRÍGUEZ CASTELLANOS



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA  
IGNACIO CHÁVEZ



**“PRESENCIA DE POLIMORFISMOS rs833060 rs25648 DEL GEN DE FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) Y SU ASOCIACIÓN CON NEFROPATIA DIABETICA DE EVOLUCIÓN ACELERADA”**

Jefe del servicio de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología:

---

**Dra. Magdalena Madero Róvalo**

Director de Enseñanza del Instituto Nacional de Cardiología:

---

**Dr. José Fernando Guadalajara Boo**

Tutor de tesis:

---

**Dr. Francisco Rodríguez Castellanos**

Tesista:

---

**Dr. Juan Alfredo Palma Ramirez**

<b>INDICE</b>	<b>Pag</b>
RESUMEN	6
MARCO TEÓRICO	9
1. INTRODUCCIÓN	9
2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS E HISTORIA NATURAL	10
3. PATOGÉNESIS DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA	11
3.1 Rol de la glucosa y productos de glucosilación avanzada (AGE's)	
3.2 Estrés oxidativo y glucooxidativo	
3.3 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	
3.4 Función Endotelial	
3.5 Aspectos genéticos	
JUSTIFICACIÓN	17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	18
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS	18
DISEÑO	18
PACIENTES	19
1. Criterios de Inclusión	
2. Criterios de Exclusión	
3. Criterios de Eliminación	
VARIABLES Y MEDICIONES	19
1. Variables clínicas	
2. Variables bioquímicas	
3. Variables genéticas	

ESTADÍSTICA	23
CONSIDERACIONES ÉTICAS Y ECONÓMICAS	23
PROCEDIMIENTOS	24
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	49
ABREVIATURAS	53

## **RESUMEN**

**ANTECEDENTES:** La Diabetes mellitus (DM2) afecta a 246 millones de personas a nivel global. En México la prevalencia en 2005 fue de 10.7% entre personas de 20-69 años de edad lo cual corresponde a 6.5-10 millones de personas. Se estima que en nuestro país 14 de cada 100 diabéticos tienen nefropatía diabética (ND) y es la primera causa de enfermedad renal crónica tanto en nuestro país como en el mundo. Múltiples sistemas se encuentran involucrados en el desarrollo y progresión de ND, sin embargo no se ha podido determinar que pacientes presentarán una progresión acelerada de su enfermedad, ocasionando un inicio más temprano de terapia de soporte renal con los costos que esto implica al sistema de salud. Uno de los sistemas propuestos en la progresión acelerada o atípica en ND, es el sistema vascular endotelial glomerular, donde se han descrito múltiples factores de crecimiento y citocinas, asociadas a un malfuncionamiento endotelial glomerular lo cual predispone a lesiones microvasculares que se expresan clínicamente con mayor deterioro de la función renal. Una de los factores de crecimiento más estudiados en la progresión de ND es el VEGF, del cual se han descrito diferentes polimorfismos asociados con mayor deterioro de la función renal en pacientes con nefropatía diabética. Los polimorfismos rs833060 y rs25648 se han reportado en población mexicana, sin embargo no se ha estudiado su asociación con la progresión de nefropatía diabética.

**OBJETIVO:** : Determinar si existe asociación entre los polimorfismos del gen VEGF y el desarrollo de nefropatía diabética con evolución clínica acelerada en pacientes del Instituto Nacional de Cardiología.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se incluyeron 220 pacientes con el diagnóstico de DM2 y NPD; esta última definida de acuerdo a criterios clínicos (tiempo de evolución DM2, proteinuria, y presencia de otras complicaciones microvasculares). Se estratificaron dos

grupos: Pacientes con NPD y evolución clínica acelerada (Grupo 1) (N: 73 (32.8%) y aquellos con NPD y evolución clínica esperada 149 (Grupo2) (67.2%). Se realizó captura variables clínicas (peso, tensión arterial, retinopatía, neuropatía), y bioquímicas (colesterol, creatinina, TFG por CKDEPI, Pr/Cru, glucosa, triglicéridos, ácido urico y albumina). Se realizó extracción de DNA de leucocitos de sangre periférica para la determinación de los polimorfismos utilizando el sistema 7900HT Fast Real Time Polymerase chain reaction (PCR). Se definió NPD evolución clínica acelerada aquellos pacientes que presentaran una caída de TFG por CKD-EPI mayor a 10 ml/min por año.

**RESULTADOS:** Un total de 346 pacientes, de los cuales 222 tienen diagnóstico clínico de ND, y de ellos 21.1% con evolución clínica acelerada. En la estratificación por genotipo encontramos una distribución del SNP rs833060 alelo GG en 44.5%, TT 11.6%, heterocigoto 43.1%, en el SNP rs25648 alelo CC 69.4%, TT 1.7% y heterocigoto 27.5%, no encontramos datos con significancia estadística entre una distribución alélica característica en pacientes con ND y evolución clínica acelerada; sin embargo, encontramos alteraciones en la función renal medida por CrS a 1 año mayor en heterocigotos SNP rs833060 ( $P=0.037$ ), CrCl a 1 año menor en heterocigotos rs833060 ( $P=0.012$ ). Así mismo, describimos mejor control tensional a 2, 3 y 4 años en los pacientes homocigotos GG del SNP rs833060, quienes presentaban mejores cifras de TAS y TAD ( $P= 0.003$ ). Con el SNP rs25648 se encontraron mayores niveles de HDL en homocigotos TT ( $P=0.012$ ) y menores niveles de TAS y TAD en homocigotos TT.

**CONCLUSIÓN:** No se observó una distribución alélica característica en los pacientes con ND y una evolución clínica acelerada; sin embargo, fue evidente una menor función renal medida por CrS y CrCl en pacientes heterocigotos SNP rs833060, quienes presentaban mayores niveles de CrS y menor CrCl a 1 año del diagnóstico de ND. Así mismo, se

encuentra que los pacientes homocigotos GG del SNP rs833060 presentaban menores cifras de TAS y TAD a 2,3 y 4 años de seguimiento del diagnóstico de ND. Los pacientes homocigotos GG presentan mejor estimación de sobrevida de forma estadísticamente significativa, para desenlaces definidos con TFG  $<60$  ml/min y  $<10$  ml/min. Además, los pacientes homocigotos TT del SNP rs25648 presentan un perfil lipídico caracterizado por mayores niveles de HDL.

## MARCO TEÓRICO

### 1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes mellitus (DM) afecta actualmente a 246 millones de personas alrededor del mundo (171 millones en el 2000<sup>1</sup>) y se espera que para el 2025 esta cifra incremente a 380 millones<sup>2</sup>. En 2007, los 3 países con más alta prevalencia fueron India (40.9 millones), China (39.8 millones), USA (19.2 millones); en México la prevalencia registrada en 2005 fue de 10.7% entre personas de 20-69 años de edad, lo cual corresponde a 6.5-10 millones de personas (9º lugar a nivel mundial). Es importante mencionar que la prevalencia en el mismo grupo de edad incrementa hasta 15% en la frontera con USA<sup>3</sup>. La incidencia anual de DM a nivel mundial es de 7 millones; en México durante el 2005 la incidencia fue de 400 000.

La pandemia de DM tiene grandes repercusiones económicas a nivel mundial, la OMS ha estimado que el costo de mortalidad por DM en China fue de aproximadamente 250 billones de dólares en 2005, 225 billones de dólares en Rusia y 210 billones de dólares en la India en el mismo año<sup>2</sup>. En México, según el Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS), la principal causa de muerte en edad económicamente activa es DM, y tuvo un costo anual de 320 millones de dólares en 2005, lo cual correspondió al 4.7% del gasto público de la SSA. Según datos del IMSS en 2004 se destinaron 15000 pesos mensuales para la atención de cada derechohabiente con DM.

Las alteraciones renales en pacientes con DM se reportaron por primera vez en el siglo 19, por médicos alemanes y franceses los cuales describieron hipertrofia renal y proteinuria en DM. En 1936 Kimmelstiel y Wilson describieron por primera vez las lesiones glomerulares y no fue sino hasta finales de los 60's cuando se comenzó a dar la verdadera importancia a

la nefropatía diabética (ND) como causa de enfermedad renal crónica y de requerimientos de diálisis<sup>3</sup>.

En México se estima que 14 de cada 100 diabéticos tienen ND y es la primera causa de enfermedad renal crónica terminal tanto en nuestro País como en el mundo. A nivel mundial 35-40% de los casos nuevos de enfermedad renal crónica son secundarios a ND. Los costos anuales en EUA son de 35 mil dólares por paciente en hemodiálisis<sup>4</sup>.

## **2. MANIFESTACIONES CLINICAS E HISTORIA NATURAL**

La principal manifestación clínica que acompaña a los cambios ultraestructurales son: albuminuria, hipertensión arterial sistémica, disminución de la función renal llevando finalmente a la presencia de uremia y requerimiento de terapia sustitutiva de la función renal.

Se reconocen 3 etapas en la ND, inicialmente se consideraba a la hiperfiltración glomerular únicamente en pacientes tipo 1 (estadios 1 y 2 de la clasificación de Mogensen), sin embargo en la actualidad se sabe que del 30-40% de los pacientes diabéticos tipo 2 de reciente diagnóstico se encuentran hiperfiltrando, lo cual se debe a un incremento en la presión intraglomerular y suele haber mejoría y normalización de la filtración glomerular, a continuación se describen las etapas en ND.

### **Estadio 1 (microalbuminuria). Nefropatía incipiente**

Excreción de albúmina de 30-300 mg/día, en ausencia de situaciones clínicas las cuales pueden cursar con incremento de la albuminuria como hipertermia, insuficiencia cardiaca congestiva, ejercicio exhaustivo, alta ingesta proteica o infecciones de las vías urinarias. Generalmente se presenta 6-15 años posteriores al diagnóstico con una incidencia anual de 2% una vez establecido el diagnóstico. Hay discreto incremento en cifras de tensión arterial

y desaparece la caída fisiológica nocturna de la presión arterial. La disminución de TFG es de 0.8-1.1 ml/min/año.

### **Estadio 2. Nefropatía establecida**

Generalmente se presenta después de 15-20 años de la enfermedad (el 25% de los pacientes con DM2 llegan a este estadio luego de 20 años de la enfermedad), la regla es la presencia de proteinuria (albuminuria mayor a 300 mg/día o proteinuria mayor a 500 mg/día) y prácticamente todos los pacientes tiene hipertensión arterial (prevalencia de hipertensión arterial del 80%). Cerca del 90% de los pacientes con ND establecida tienen retinopatía diabética y la prevalencia de retinopatía diabética proliferativa es del 58%. La proteinuria incrementa entre 15-40% anual con caída en la filtración glomerular de 10-11 ml/min/año en ausencia de tratamiento médico adecuado<sup>5,6</sup>.

### **Estadio 3. Enfermedad Renal avanzada**

Generalmente se establece 7-10 años después de mantener proteinuria persistente, sin embargo, difiere enormemente dependiendo del fondo genético, siendo la mayor incidencia entre los indios Pima, seguido de hispanos y afroamericanos. En los primeros, la incidencia acumulada a 10 años del inicio de proteinuria es de 40% y a 15 años del 61%, contrastando con la incidencia en caucásicos en los cuales la incidencia a 10 años es del 11% y a 15 años del 17%. Del 25% de los diabéticos que desarrollan ND, sólo el 20% progresa a estadio 3.

## **3. PATOGÉNESIS ND**

La ND se caracteriza por una serie de cambios ultraestructurales prácticamente en la totalidad del riñón, los cuales incluyen engrosamiento de la membrana basal glomerular, hipertrofia glomerular y tubular, acumulación de matriz extracelular (ECM) y expansión mesangial, glomeruloesclerosis y fibrosis túbulo-intersticial. La expansión mesangial a nivel glomerular así como la fibrosis túbulo-intersticial ocasionan al paso del tiempo

insuficiencia renal<sup>7</sup>. 10-20% de los pacientes con DM no insulino dependiente desarrollan ND y esta puede desarrollarse en algunos pacientes pese a un adecuado control glucémico y en otros puede no desarrollarse a pesar de descontrol metabólico de larga evolución.

Los mecanismos involucrados en el desarrollo de ND son variados, complejos y se interrelacionan unos con otros, sin embargo se considera el pobre control metabólico y la duración de la enfermedad como 2 de los principales factores involucrados. Se han realizado grandes esfuerzos para tratar de identificar las vías inducidas por la hiperglucemia a nivel renal, sin embargo, como se mencionó previamente, estos mecanismos son complejos e involucran el sistema renina-angiotensina-aldosterona, múltiples cascadas inflamatorias, factores de crecimiento, sistemas de óxido-reducción, así como citocinas descritas de forma reciente involucradas en dicha patogénesis, como el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF).

### **3.1 Rol de la glucosa y Productos Finales de Glucosilación Avanzada (AGE's)**

La hiperglucemia ha sido involucrada en el desarrollo de hiperfiltración mediante dilatación arteriolar aferente secundaria a liberación de factores como el factor de crecimiento parecido a insulina tipo 1 (IGF-1), óxido nítrico, glucagon y prostaglandinas. La estimulación de factores como el IGF-1, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento tumoral beta, están implicados en la hipertrofia renal que se observa en ND<sup>8</sup>. Concentraciones altas de glucosa extracelular estimulan la sobreexpresión de los transportadores de glucosa GLUT-1 en las células mesangiales, lo cual condiciona un incremento en la producción de matriz extracelular mediante la activación persistente de proteinkinasa C (PKC).

La hiperglucemia crónica ocasiona glucosilación no enzimática de aminoácidos, proteínas y lípidos, formando los AGE's (pentosidina, carboximetilisina, piralinas, etc). El receptor de

estos productos (RAGE), a nivel renal, se encuentra expresado en los podocitos. El RAGE traduce los efectos de diferentes ligandos, entre ellos y uno de los principales es el s100/calgranulina. Dicha interacción incrementa la respuesta inflamatoria crónica, existe activación de células mesangiales, lo cual lleva a formación de citocinas y proteínas proinflamatorias y profibróticas.

### **3.2 Estrés oxidativo y glucooxidativo**

Múltiples vías se encuentran involucradas en el incremento del potencial Redox y glucooxidativo en la DM, entre ellas están: 1) el incremento en el transporte de electrones a nivel mitocondrial inducido por hiperglucemia, 2) actividad alterada de eNOS produciendo radicales superóxido en lugar de óxido nítrico, 3) incremento en la autooxidación de glucosa, 4) producción de AGE's y activación de sus receptores y 5) disminución de antioxidantes endógenos como vitamina A, C, E, ácido lipóico y enzimas antioxidantes. Dentro de las consecuencias del incremento en estrés oxidativo a nivel renal se encuentra, la inactivación del óxido nítrico y la producción incrementada de peroxinitrito, lo cual origina cambios hemodinámicos intrarrenales e influir en la generación de matriz extracelular.

### **3.3 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona**

La angiotensina II (AG-II) regula el crecimiento, proliferación e hipertrofia de las células mesangiales, incrementa la expresión de proteínas de la matriz mesangial tales como laminina, colágena y fibronectina, al mismo tiempo mediante sobreexpresión los inhibidores tisulares de metaloproteinasas y PAI-1, lo cual promueve una menor capacidad de promover la diferenciación de fibroblastos a miofibroblastos, los cuales penetran en los espacios peritubulares y pericapilares favoreciendo el desarrollo de fibrosis<sup>9</sup>. La actividad de AG-II activa células inflamatorias mediante quimiotaxis y producción de mediadores

inflamatorios, promoviendo infiltración mononuclear a nivel glomerular e intersticial. La AG-II activa diferentes factores de transcripción nuclear como la proteína activada-1, el NF-kB, se activan vías de señalización como PKC, MAPK, PTK, las cuales son sensibles a Redox. El resultado final de la estimulación de estas vías de señalización es la producción y activación del sistema TGF-B<sup>9</sup>. La aldosterona actúa como un factor independiente de la AG-II, mediante acciones profibróticas, en ausencia de cambios relevantes de presión arterial, a través de la estimulación en la expresión de TGF-B, PAI-1 y PDGF.

### **3.4 Función Endotelial**

Los mecanismos que originan el desarrollo de ND permanecen indeterminados, solamente 30-40% de los pacientes con DM desarrollan nefropatía, lo cual sugiere que otros factores contribuyen además del estado diabético per se, para la progresión de ND. La disfunción endotelial está asociada con ND y retinopatía, además que la glomerulopatía diabética avanzada a menudo exhibe datos de microangiopatía trombótica, incluyendo microaneurismas en capilares glomerulares y mesangiolisis, las cuales son manifestaciones típicas de disfunción endotelial en el glomérulo.

En 1989 Jensen et al., describieron por primera vez que el daño endotelial evidenciado por un incremento en niveles plasmáticos de vWF, estaba presente en pacientes con DM1.

Se han descrito diferentes mecanismos potenciales, a través de los cuales la disfunción endotelial acelera el desarrollo de ND: autoregulación renal alterada, hipertensión glomerular desencadenada por disminución de óxido nítrico en células endoteliales, incremento en presión arterial sistólica; este incremento en la presión glomerular podría ser responsable parcialmente del desarrollo de mesangiolisis, la cual es observada en ND; un segundo mecanismo a través del cual, la disminución de óxido nítrico, podría desarrollar

progresión de la ND es por medio del incremento de respuesta en diversos tipos celulares, incluyendo endotelio y macrófagos al VEGF<sup>10</sup>.

El VEGF es un factor de crecimiento específico endotelial el cual promueve proliferación celular endotelial, supervivencia y diferenciación, es un mediador de vasodilatación dependiente del endotelio, induce permeabilidad endotelial y participa en la remodelación de la matriz extracelular a través del PAI-1.

Aunque las funciones de VEGF y VEGFR expresadas de forma constitutiva en riñones normales son desconocidas, algunas hipótesis de su función surgen de la distribución peculiar de estos en el riñón.

En el glomérulo, la expresión de VEGF es abundante en podocitos, mientras que su receptor (VEGFR-2) se presenta principalmente en la superficie de las células endoteliales. Esta disposición implica que el VEGF derivado de los podocitos es capaz de cruzar la MB en contra del flujo urinario para llevar a cabo sus efectos biológicos. Como evidencia de este aparente lenguaje cruzado, tanto la delección como sobreexposición de VEGF derivado de podocitos resulta en enfermedades específicas en ratones. La expresión renal (tanto de VEGF como VEGFR-2) está incrementada en DM temprana y a las 3 semanas de la inducción con estreptozocina, estos hallazgos se han interpretado como indicadores de un rol directo en el incremento de actividad de VEGF en la patogénesis de ND; además, más que su inhibición, el incremento de VEGF ha demostrado una disminución en la lesión renal tanto en MAT como en el riñón remanente en modelos de ERC progresiva. Un mecanismo para el aparente rol paradójico del VEGF en ND y no diabética está probablemente asociado a la etapa de la enfermedad estudiada. Acorde a esto (modelos animales muestran lesiones renales de ND tempranas y pocas veces evolucionan a enfermedad fibrótica avanzada) más que un incremento en la expresión de VEGF (observada

en modelos experimentales) la ND en humanos está asociada con una disminución de actividad en VEGF<sup>11</sup>.

En DM1 las concentraciones séricas de VEGF varían de acuerdo al control glucémico, sin embargo, concentraciones mayores son asociadas con complicaciones microvasculares, incluyendo microalbuminuria. En DM2 el VEGF está suprarregulado en etapas tempranas de la enfermedad y los niveles urinarios de VEGF correlacionan con microalbuminuria. Estudios posteriores han confirmado una suprarregulación inicial de la señalización de VEGF en DM2 seguido de infrarregulación en cuanto se desarrolla pérdida de podocitos y esclerosis.

### **3.5 Aspectos genéticos**

La pérdida de TFG en pacientes diabéticos es 4-5 veces mayor que en personas sin DM, con un rango muy amplio que va de 0-24 ml/min/año; debido a este rango de deterioro de TFG, habrá pacientes que requieran terapia de reemplazo renal a pocos años de establecida la ND y otros que mueran con función renal preservada. Los primeros datos acerca de la influencia genética en la progresión de ND fue observada por primera vez en 1989 por Seaquist et al., quien describe a una pequeña familia en la cual 12 de 29 hijos de padres con trasplante renal debido a ND, eran portadores también de enfermedad renal crónica terminal. Los avances en la última década (mapeo completo del genoma humano y desarrollo de diferentes tipos de técnicas de investigación) han resultado en un gran número de estudios e interacciones genéticas específicas.

El gen que codifica al VEGF se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6 (6p12) y contiene 9 exones que codifican una proteína que es habitualmente encontrada como un homodímero con puentes disulfuro. Gene ID: 7422

A través de perfiles de expresión, Lindemayer et al., mostraron que en contraste con modelos experimentales, la expresión de VEGF está reducida en compartimientos tubulointersticiales de pacientes diabéticos con ND. De forma similar se ha reportado una disminución de RNAm en glomérulos de riñones humanos con ND. Por otro lado, Hohenstein et al., encontraron una expresión incrementada de VEGF en ND, sin embargo, notaron que al usar anticuerpos vs receptor de VEGF su actividad estaba disminuida<sup>11</sup>.

Desde hace más de 20 años, cientos de polimorfismos han sido involucrados en la patogénesis de las complicaciones vasculares de la DM, estos polimorfismos pudieran modificar la actividad de las proteínas, así como alterar su expresión y estabilidad<sup>12</sup>.

Se han descrito hasta 140 polimorfismos que superan el límite de significancia ( $5 \times 10^{-8}$ ), sin embargo dichos estudios son pacientes con descendencia Europea, por lo que dichos hallazgos no pueden generalizarse a otros grupos étnicos.

Los polimorfismos del VEGF descritos con cambios de base C/T en la posición -460, G/C cambio a +405 y A/C en -141 son los más frecuentes observados en población normal. Sin embargo dichos estudios no se han desarrollado en población diabética y mucho menos en población latinoamericana.

## **JUSTIFICACIÓN**

La ND es la principal causa de enfermedad renal crónica en nuestro país, reportándose 14 casos de ND por cada 100 diabéticos. Diversos mecanismos se encuentran implicados en la patogénesis de la ND, siendo la función endotelial un sistema al cual se ha dado nuevamente atención como un factor importante en la progresión de la ND a ERCT. El hecho de que la prevalencia se encuentre incrementada en ciertas regiones así como en ciertas razas, subraya la importancia de factores ambientales así como genéticos en la patogenia de la enfermedad.

Se ha estudiado la asociación de polimorfismos del gen que codifica al VEGF con los niveles séricos del producto de dicho gen en diferentes presentaciones de ND, encontrando resultados contradictorios, principalmente en población europea y asiática. El fondo genético de nuestro pacientes, dada nuestra naturaleza mestiza es diferente a las poblaciones previamente mencionadas, por lo que sería de gran utilidad conocer si en nuestra población existe un perfil genético, en lo que a los polimorfismos del gen del VEGF se refiere, asociado con diferentes patrones de evolución en ND.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe asociación entre las variantes polimórficas rs833060 y rs25648 del gen que codifica para el VEGF con el desarrollo de nefropatía diabética acelerada?

### **HIPÓTESIS**

Los polimorfismos rs833060 y rs25648 del gen que codifica para el VEGF se presentan con mayor frecuencia en los pacientes con nefropatía diabética con un curso clínico acelerado.

### **OBJETIVOS**

Primario: Determinar si existe asociación entre los polimorfismos rs833060 y rs25648 del gen VEGF y el desarrollo de nefropatía diabética con evolución clínica acelerada

Secundario: Evaluar si existen diferencias en sobrevida, inicio de terapia de reemplazo renal, presión arterial, niveles de ácido úrico, colesterol, triglicéridos y HbA1c.

### **DISEÑO**

Según la clasificación de Kleinbaum, desde el punto de vista de direccionalidad (secuencia de observación ante exposición y enfermedad) se trata de un estudio transversal. Desde el punto de vista de temporalidad (relación cronológica entre el inicio del estudio y la ocurrencia de exposición o enfermedad) corresponde a un estudio de casos y controles, en

pacientes del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez con diagnóstico de nefropatía diabética

## **PACIENTES**

### **Criterios de Inclusión**

Se incluirán pacientes con DM2 pertenecientes al servicio de nefrología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, que reúnan las siguientes condiciones:

- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes con diagnóstico de DM2
- Enfermedad renal crónica atribuida a nefropatía diabética en base clínica y/o histopatológica

### **Criterios de Exclusión**

- Pacientes con DM1
- Glomerulopatía no diabética asociada diagnosticada por biopsia
- Trasplante renal
- Lesión Renal Aguda de cualquier etiología

### **Criterios de Eliminación**

- Pacientes que no contaban con suficiente información en el expediente clínico

## **VARIABLES Y MEDICIONES**

### **Variables clínicas**

Se obtendrán del expediente clínico al momento de ingresar al estudio:

1. Edad al momento de entrada al estudio (años)
  - a. Definición operacional: Años cumplidos al momento de ingreso al estudio
2. Género

- a. Definición operacional: Indica sexo de la persona
3. Peso
  - a. Definición operacional: Indica los kg que pesa un paciente, medido con una báscula de pie debidamente calibrada
4. Talla
  - a. Definición operacional: Indica los metros que mide el paciente medido con cinta métrica
5. Índice de Masa Corporal (IMC)
  - a. Definición operacional: Número que se obtiene a partir de la siguiente ecuación  $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Talla}^2 (\text{m}^2)$
6. Presión Arterial Sistólica (PAS)
  - a. Definición operacional: Registro reportado en mmHg al escuchar la primera fase de los ruidos de Korotkoff mediante esfigmomanómetro de columna de mercurio y estetoscopio
7. Presión Arterial Diastólica (PAD)
  - a. Definición operacional: Registro reportado en mmHg que se obtiene al dejar de escuchar los ruidos de Korotkoff mediante esfigmomanómetro de columna de mercurio y estetoscopio
8. Tiempo de Evolución de DM
  - a. Definición operacional: Indica el número de meses desde el diagnóstico de DM hasta el momento actual
9. Proteinuria nefrótica
  - a. Definición operacional: Presencia de excreción urinaria de proteínas  $\geq > 3.5$  grs/24 hrs y/ó PrU/CrU  $\geq > 3.5$  gr/gr

## 10. Tasa de Filtrado Glomerular (TFG)

- a. Definición operacional: Número reportado en ml/min el cual se obtiene mediante la fórmula CKD-EPI

$$\text{CKD-EPI} = 141 \times \min(\text{Cr}/K, 1)^a \times \max(\text{Cr}/K, 1)^{-1.029} \times (0.993)^{\text{Edad}} \times \text{GN}_F \times \text{ET}_F$$

Variable K= 0.7 mujeres, 0.9 hombres. Variable a es -0.329 mujeres y -0.411 hombres. GN<sub>F</sub> (factor de género) Hombre=1, Mujeres=1.018. ET<sub>F</sub> (Factor étnico) blanco-no negro= 1, Negro 1.159

## 11. Pérdida Acelerada de la Función Renal

- a. Definición operacional: Representa una diferencia mayor o igual en términos absolutos de 10 ml/min de caída de la filtración glomerular en el año previo a la inclusión al estudio

## 12. Tratamiento

- a. Definición operacional: Indica los medicamentos prescritos al paciente durante la última consulta

## **Variables bioquímicas**

Muestras de sangre serán obtenidas para medir:

### 1. Creatinina sérica (mg/dl)

- a. Definición operacional: Cantidad de Creatinina presente en el suero edida por medio de autoanalizador y expresada en miligramos por cada decilitro

### 2. Glucosa (mg/dl)

- a. Definición operacional: miligramos de dicho monosacárido presente por cada decilitro de sangre medidos por autoanalizador.

### 3. Hemoglobina glucosilada o HbA1c (%)

- a. Definición operacional: porcentaje de hemoglobina glucosilada en sangre determinada mediante ensayo inmunológico fotométrico y expresado en porcentaje
4. Colesterol (mg/dl)
    - a. Definición operacional: cantidad de colesterol presente en el suero medido mediante autoanalizador y expresado en miligramos por decilitro
5. Triglicéridos
    - a. Definición operacional: Cantidad de triglicéridos presentes en el suero, medido por un autoanalizador y expresado en miligramos por decilitro
6. Ácido úrico (mg/dl)
    - a. Definición operacional: cantidad de ácido úrico presente en el suero, medido por un autoanalizador y expresado en miligramos por decilitro.
7. Albúmina sérica (g/dl)
    - a. Definición operacional: cantidad de albúmina presente en suero medida por medio de autoanalizador y expresada en gramos por cada 100 ml.
8. Índice Proteinuria-Creatinuria (g/g)
    - a. Definición operacional: Resultado de la división de la proteinuria expresada en mg/dl entre la creatinuria expresada en mg/dl y expresado en g/g

### **Variables genéticas**

1. Polimorfismo gen VEGF rs833060
  - a. Definición operacional: presencia de haplotipo GG, TT o ambos, obtenidos mediante el método de reacción en cadena de polimerasa
2. Polimorfismo gen VEGF rs25648

- a. Definición operacional: presencia de haplotipo CC, GG ó ambos, obtenidos mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa

Una vez que el paciente haya aceptado participar en el estudio y se tome muestra de sangre, las diferentes variables bioquímicas y clínicas se tomaran del expediente clínico al momento de la primera consulta del paciente en nefrología, posteriormente se recabarán datos de los 6 meses de seguimiento, 1 año de seguimiento, 2 años de seguimiento, 3 años, 4 años, 5 años y momento actual.

## **ESTADÍSTICA**

### **Análisis**

Los resultados se expresarán como promedio  $\pm$  DS ó bien como proporciones, según corresponda.

La comparación de medias con más de 2 grupos (de acuerdo a las 3 variantes polimórficas estudiadas de cada polimorfismo de VEGF) se llevó a cabo mediante ANOVA de 1 vía.

Se muestran tablas de sobrevivencia y medidas repetidas a 3 años de ambos polimorfismos, en curvas de Kaplan-Meier

Las frecuencias de los alelos y genotipos serán obtenidos por conteo directo. Se establecerá si las poblaciones estudiadas están en equilibrio de Hardy-Weinberg para el polimorfismo analizado utilizando el programa estadístico.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS Y ECONÓMICAS**

A todos los pacientes se les informó de manera verbal y sin dejar alguna duda, la naturaleza del estudio, los beneficios, los cuales no son obtenidos de manera directa, sino más bien la posibilidad de contribuir para poder generar conocimiento el cual pudiera en un futuro generar beneficios tangibles. Por otro lado se les dio un formato de consentimiento informado.

La única intervención a la que fueron sometidos los pacientes due a la toma de muestra de sangre (20 ml) para la extracción de DNA, lo cual se llevó a cabo en el departamento de nefrología área de investigación clínica. Se explicó que las complicaciones como hematoma en el sitio de punción, infección, flebitis, son mínimas y generalmente resuelven sin necesidad de realizar alguna intervención relevante al cabo de 3-4 días. Además de haberse recalcado la confidencialidad de los resultados.

A los pacientes no se les solicitaron estudios complementarios a los que se solicitan de forma rutinaria en la consulta de seguimiento de nefrología, por lo cual no se generaron gastos extraordinarios al paciente; por otro lado, los estuios de los polimorfismos del VEGF se realizaron gracias al invaluable apoyo del departamento de Genética del Instituto Nacional de Cardiología a cargo del Dr. Gilberto Vargas Alarcón.

## **PROCEDIMIENTOS**

1. El estudio se llevará a cabo en el departamento de Nefrología y genética del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.
2. El reclutamiento de los pacientes y la revisión del expediente clínico para obtener las variables clínicas se harán por parte del investigador principal (Dr. Juan Alfredo Palma Ramírez).
3. La toma de muestras para la medición de las variables genéticas será responsabilidad del investigador principal.
4. Una vez tomadas las muestras se transportarán al departamento de genética donde se almacenarán y se realizará extracción del DNA como se describe en apéndice 1.
5. Fecha inicio estudio: 1 octubre 2013
6. Fecha término estudio 31 agosto 2014

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 346 pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 en seguimiento por presentar Enfermedad Renal Crónica en el departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez en un periodo comprendido entre junio del 2009 a noviembre 2014. Se dividió el total de la población en 2 grupos principales, los pacientes diabéticos con diagnóstico clínico de nefropatía diabética, un total de 222 (64.2%) y los pacientes con ERC sin diagnóstico clínico de nefropatía diabética 124 (35.8%). Se estratificaron los pacientes por evolución clínica, y encontramos lo siguiente: 260 (75.1%) pacientes con evolución clínica esperada y 86 (24.9%) con evolución clínica acelerada; se definió evolución clínica acelerada a una diferencia mayor o igual, de forma anual, en términos absolutos de la TFG medida por CKD-EPI de 10 ml/min. Los grupos de pacientes con y sin diagnóstico clínico de ND, se dividieron posteriormente de acuerdo a su evolución clínica en 4 grupos: Grupo 1, pacientes con diagnóstico clínico de ND con evolución esperada (149 pacientes, 43.1%), Grupo 2 pacientes con diagnóstico clínico de ND y evolución acelerada (73 pacientes, 21.1%), Grupo 3 pacientes con ERC sin diagnóstico clínico de ND y evolución esperada (111 pacientes, 32%), y Grupo 4 pacientes con ERC sin diagnóstico clínico de ND y evolución acelerada (13 pacientes, 3.8%). (Tabla 1.1)

Del total de pacientes, 128 (37%) son mujeres y 218 (63%) hombres, con una edad promedio de  $65.2 \pm 10.6$  años, tiempo de evolución de DM al inicio del estudio de  $209 \pm 116.9$  meses y tiempo de seguimiento en nefrología de  $34.2 \pm 23.9$  meses. Así mismo, se observan las siguientes características relacionadas a función renal al inicio del estudio, CrS  $1.8 \pm 1.2$  mg/dl, con TFG calculada por CKD-EPI  $45.1 \pm 23$  ml/min, un índice PrU/CrU 1.9

$\pm 2.7$  g/g, presentaban una TAS  $132 \pm 15.1$  mmHg y TAD  $78.8 \pm 10.9$  mmHg. En la tabla 1 se muestran las características clínicas y demográficas de la población.

**Tabla 1.** Características clínicas Población Total

<b>Hombres</b>	63% (N=346)
<b>Mujeres</b>	37% (N=346)
<b>Edad</b>	$65.2 \pm 10.6$ años
<b>Tiempo diagnóstico DM</b>	$209.9 \pm 116.9$ meses
<b>Seguimiento Nefrología</b>	$34.2 \pm 23.9$ meses
<b>TAS inicio seguimiento nefrología</b>	$136 \pm 18.5$ mmHg
<b>TAD inicio seguimiento nefrología</b>	$80.39 \pm 10.6$ mmHg
<b>TAS actual</b>	$132 \pm 15.1$ mmHg
<b>TAD actual</b>	$78.8 \pm 10.9$ mmHg
<b>Peso inicial</b>	$72.4 \pm 12.3$ Kg
<b>Peso actual</b>	$71.5 \pm 12$ Kg
<b>Creatinina Sérica inicial</b>	$1.8 \pm 1.2$ mg/dl
<b>Creatinina Sérica actual</b>	$2.6 \pm 2.2$ mg/dl
<b>CKD-EPI inicial</b>	$45.1 \pm 23$ ml/min
<b>CKD-EPI actual</b>	$36.8 \pm 24.5$ ml/min
<b>PrU/CrU inicial</b>	$1.9 \pm 2.7$ g/g
<b>PrU/CrU actual</b>	$1.7 \pm 2.5$ g/g
<b>Ácido Úrico inicial</b>	$6.9 \pm 1.8$ mg/dl

<b>Ácido Úrico final</b>	6.5 ± 1.7 mg/dl
<b>Albúmina inicial</b>	4 ± 0.51 g/dl
<b>Albúmina actual</b>	4 ± 0.50 g/dl
<b>Colesterol inicial</b>	180.8 ± 56.9 mg/dl
<b>Colesterol actual</b>	171.9 ± 47.5 mg/dl
<b>HDL inicial</b>	42.2 ± 12.8 mg/dl
<b>HDL actual</b>	43.5 ± 12.3 mg/dl
<b>LDL inicial</b>	110.5 ± 52.2 mg/dl
<b>LDL actual</b>	110.9 ± 43.2 mg/dl
<b>Triglicéridos inicial</b>	185 ± 92.5 mg/dl
<b>Triglicéridos actual</b>	174.6 ± 121.1 mg/dl
<b>Glucosa inicial</b>	143.8 ± 67.9 mg/dl
<b>Glucosa actual</b>	138.3 ± 60 mg/dl
<b>Diagnóstico clínico ND</b>	64.2% (N=346)
<b>Evolución clínica acelerada</b>	24.9% (N=346)
<b>Retinopatía diabética</b>	67.3% (N=346)
<b>Neuropatía diabética</b>	14.2% (N= 346)
<b>SNP VEGF rs833060</b>	GG 44.5% (N=346)
	TT 11.6% (N=346)
	Ambos 43.1% (N=346)
<b>SNP VEGF rs25648</b>	CC 69.4% (N=346)
	TT 1.7% (N=346)
	Ambos 27.5% (N=346)

**Tabla 1.1** Frecuencia de Pacientes por evolución clínica

Grupo	Frecuencia	Porcentaje
<b>Grupo 1: ND evolución esperada</b>	149	43.1
<b>Grupo 2: ND evolución acelerada</b>	73	21.1
<b>Grupo 3: ERC sin diagnóstico clínico de ND y con evolución esperada</b>	111	32
<b>Grupo 4: ERC sin diagnóstico clínico de ND y con evolución acelerada</b>	13	3.8

Se comparó la función renal medida por CKD-EPI y CrCl en los pacientes con diagnóstico clínico de ND (grupo 1) y pacientes con ERC sin diagnóstico clínico de ND (grupo 2), al inicio del seguimiento por nefrología, al año, 2, 3 y 4 años: se observó que los pacientes con diagnóstico clínico de ND presentan mayor deterioro renal medido por CKD-EPI y CrCl al compararse con pacientes con ERC sin diagnóstico clínico de ND (Tabla 1.2). En el análisis de grupos por evolución clínica, se comparó la función renal medida por TFG calculada por CKD-EPI y CrCl al inicio de seguimiento por nefrología, al año, 2 y 3 años, en los pacientes de los grupos 1 a 4; y como era de esperarse, se observó un mayor deterioro de la función renal, en el grupo de evolución acelerada, siendo este más evidente, en el grupo con diagnóstico clínico de ND (Tabla 1.3).

**Tabla 1.2** Función renal en pacientes con y sin diagnóstico clínico de ND

Variable	Grupo*	Media**	DE	Sig
<b>CKD-EPI inicio</b>	1	39.5	20.4	<b>0.031</b>
	2	55.1	24.1	
<b>CrCl inicio</b>	1	43.1	25.3	<b>0.003</b>
	2	61.2	29.04	
<b>CKD-EPI 1 año</b>	1	32.5	19.4	<b>0.001</b>
	2	55.5	25.7	
<b>CrCl 1 año</b>	1	37.5	21.9	<b>0.0001</b>
	2	63.1	34.2	
<b>CKD-EPI 2 años</b>	1	31.3	20.2	<b>0.05</b>
	2	55.9	22.8	
<b>CrCl 2 años</b>	1	38.2	23.1	<b>0.002</b>
	2	64.3	33.3	
<b>CKD-EPI 3 años</b>	1	30.4	18.9	<b>0.006</b>
	2	56.5	24.4	
<b>CrCl 3 años</b>	1	36.5	22.5	<b>0.019</b>
	2	65.1	30.7	
<b>CKD-EPI 4 años</b>	1	30.3	15.4	<b>0.0001</b>
	2	62.6	27.4	
<b>CrCl 4 años</b>	1	33.9	19.8	<b>0.011</b>
	2	62.4	29.06	

\* Grupo 1 Pacientes con diagnóstico clínico ND, Grupo 2 pacientes sin diagnóstico clínico de ND

**\*\* Media, CKD-EPI y CrCl se dan en ml/min**  
**P sig ≤ 0.05**

**Tabla 1.3** Función renal en pacientes con evolución acelerada y esperada

ANOVA				
Variable	Grupo*	Media**	DE	Sig
<b>CKD-EPI inicio</b>	1	39.4	21.5	<b>0.0001</b>
	2	39.8	18.1	
	3	55.1	24.7	
	4	55	18.9	
<b>CrCl inicio</b>	1	42.3	26.3	<b>0.0001</b>
	2	44.9	23.1	
	3	60.8	29.1	
	4	64.9	29	
<b>CKD-EPI 1 año</b>	1	34.9	20.5	<b>0.0001</b>
	2	28.4	16.8	
	3	57	26	
	4	38.6	14.5	
<b>CrCl 1 año</b>	1	39	21.4	<b>0.0001</b>
	2	34.8	22.7	
	3	64.6	34.7	
	4	46.9	23.6	
<b>CKD-EPI 2 años</b>	1	35.9	21.6	<b>0.0001</b>
	2	23.9	15.3	
	3	57.3	23.2	

	4	41.3	9.9	
<b>CrCl 2 años</b>	1	40.9	23.5	<b>0.0001</b>
	2	33.8	22.1	
	3	65.5	34.1	
	4	51.3	22.1	
<b>CKD-EPI 3 años</b>	1	34.1	19.9	<b>0.0001</b>
	2	22.6	13.9	
	3	57.1	24.5	
	4	37	.	
<b>CrCl 3 años</b>	1	39.2	23.8	<b>0.0001</b>
	2	30.7	18.6	
	3	65	31.2	
	4	68.2	.	

**\*Grupo 1 ND evolución esperada, Grupo 2 ND evolución acelerada, Grupo 3 ERC sin diagnóstico clínico de ND con evolución esperada, Grupo 4 ERC sin diagnóstico clínico de ND con evolución acelerada**

**\*\*CKD-EPI y CrCl en ml/min**

**Sig:  $P \leq 0.05$**

Además del mayor deterioro renal calculado por CKD-EPI y CrCl, en los pacientes con evolución clínica acelerada (Grupos 2 y 4), se observa un incremento significativo en la excreción de proteínas urinarias, mayores cifras de presión arterial (sistólica y diastólica), así como mayores cifras de glucosa en ayuno.

No se encontraron diferencias significativas entre grupos, al comparar la proporción de casos bajo algún tratamiento hipoglucemiante (insulina, orales o mixto), tratamiento antihipertensivo, ni la presencia de retinopatía y/o neuropatía diabética.

Se pudo obtener muestra sanguínea de todos los pacientes que se incluyeron en el estudio, para la determinación de los polimorfismos genéticos estudiados.

Para el polimorfismo G/T rs833060 encontramos 63 (18.2%) pacientes homocigotos GG en el grupo 1, 33 (9.5%) pacientes en grupo 2, 44 (12.7%) pacientes en grupo 3 y 7 (2%) pacientes en grupo 4 (p=NS). En relación a genotipo TT encontramos 16 (4.6%) pacientes en grupo 1, 8 (2.3%) pacientes en grupo 2, 11 (3.2%) pacientes en grupo 3 y 2 (0.6%) pacientes en grupo 4 (p=NS). El genotipo heterocigoto G/T se encontró en 67 (19.4%) pacientes del grupo 1, 30 (8.7%) pacientes del grupo 2, 49 (14.2%) pacientes en el grupo 3 y 1 (0.3%) paciente en el grupo 4 (p=NS). Finalmente en 3 (0.9%) casos del grupo 1, 2 (0.6%) casos del grupo 2, 7 (2%) casos del grupo 3 y 3 (0.9%) casos del grupo 4, no se pudo determinar genotipo.

En relación al polimorfismo C/T rs25648, encontramos 106 (30.6%) casos homocigotos CC en grupo 1, 51 (14.7%) casos en grupo 2, 71 (20.5%) casos grupo 3 y 3 (8.7%) casos en grupo 4 (p=NS). Se describen con genotipo TT en el grupo 1 a 2 (0.6%) pacientes, ningún caso en grupo 2, 3 (0.9%) pacientes en grupo 3 y 1 (0.3%) paciente en grupo 4 (p=NS). El genotipo heterocigoto C/T estuvo presente en 36 (10.4%) pacientes del grupo 1, 22 (6.4%) pacientes del grupo 2, 28 (8.1%) pacientes del grupo 3 y 6 (1.7%) pacientes del grupo 4 (p=NS). No se pudo determinar genotipo en 5 (1.5%) casos del grupo 1, 9 (2.6%) casos del grupo 3 y 3 (0.9%) casos del grupo 4.

Se compararon variables clínicas y bioquímicas para cada genotipo, los resultados se muestran en las Tablas 2 a 13. Cuando se compararon los diferentes genotipos del polimorfismo G/T rs833060 encontramos lo siguiente: el genotipo heterocigoto G/T se asociaban a mayor CrS a 1 año (P= 0.037) y menor CrCl a 1 año (P= 0.012), así mismo se demostro tendencia a menor TFG por CKD-EPI (P=0.074) y menores niveles de TGL a 1

año (P=0.051) en heterocigotos G/T, comparados con los pacientes que expresaban genotipo GG y TT (Tabla 2 y 3). A 2, 3 y 4 años se encontraron menores valores de TAS (P=0.013) y menores cifras de TAD (P=0.003) en pacientes homocigotos GG, al ser comparados con pacientes que expresaban genotipo TT y G/T (Tabla 4, 5, 6, 7 y 8). En el análisis de datos a 3 años se encontraron niveles de ácido úrico mayores en homocigotos TT (P=0.046) al ser comparado con expresión de genotipo GG y G/T (Tabla 6 y 7). A los 5 años de seguimiento, se encontró tendencia a mayor deterioro de TFG por CKD-EPI (P=0.054) y tendencia a menores niveles de ácido úrico (P= 0.076) en homocigotos GG, al ser comparados con la expresión de genotipo TT y G/T (Tabla 9).

Tabla 2 (variables a 1 año)				
ANOVA				
		Media	DE	Sig.
<b>CrS*</b>	<b>GG</b>	2.33	+/-1.27	<b>0.037</b>
	<b>TT</b>	2.01	+/-0.74	
	<b>GT</b>	2.90	+/-1.88	
<b>CrCl**</b>	<b>GG</b>	39.54	+/-21.61	<b>0.012</b>
	<b>TT</b>	51.02	+/-26.91	
	<b>GT</b>	33.06	+/-20.53	
<b>CKD-EPI**</b>	<b>GG</b>	35.04	+/-19.96	0.074
	<b>TT</b>	38.17	+/-21.25	
	<b>GT</b>	28.67	+/-18.14	
<b>TGL*</b>	<b>GG</b>	202.72	+/-119.8	0.051
	<b>TT</b>	201.49	+/-86.01	
	<b>GT</b>	162.30	+/-82.39	

\*en mg/dl  
\*\* en ml/min  
**Sig ≤ 0.05**

Tabla 3  
Comparaciones múltiples (T3 Dunnett y Bonferroni)

Variable dependiente	SNP rs833060		Sig.	Intervalo de confianza al límite inferior
<b>CrS*</b>	GG	TT	0.507	-.3122
		GT	0.103	-1.219
	TT	GG	0.507	-.945
		GT	<b>0.013</b>	-1.620
	GT	GG	0.103	-.079
		TT	<b>0.13</b>	.152
<b>CrCl**</b>	GG	TT	.214	-26.798
		GT	.226	-2.282
	TT	GG	.214	-3.825
		GT	<b>.015</b>	2.667
	GT	GG	.226	-15.232
		TT	<b>.015</b>	-33.255

\*en mg/dl

\*\*en ml/min

sig ≤ 0.05

Tabla 4 (variables a 2 años)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>TAS*</b>	<b>GG</b>	130.25	+/-12.47	<b>0.013</b>
	<b>TT</b>	140.33	+/-12.01	
	<b>GT</b>	140.36	+/-22.57	

\*en mmHg

sig ≤ 0.05

Tabla 5  
Comparaciones múltiples (T3 Dunnett y Bonferroni)

Variable dependiente	SNP rs833060		Sig.	Intervalo de confianza al límite inferior
<b>TAS* 2 años</b>	GG	TT	0.373	-25.91
		GT	<b>0.013</b>	-18.55
	TT	GG	0.373	-5.75
		GT	1.000	-15.77

	GT	GG	<b>0.013</b>	1.66
		TT	1.000	-15.72
	GG	TT	0.111	-22.19
		GT	<b>0.014</b>	-18.57
	TT	GG	0.111	-2.02
		GT	1.000	-13.10
	GT	GG	<b>0.014</b>	1.65
		TT	1.000	-13.05

\*en mmHg  
sig < 0.05

Tabla 6 (variables a 3 años)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>AU*</b>	<b>GG</b>	6.41	+/-1.40	<b>0.046</b>
	<b>TT</b>	7.68	+/-1.48	
	<b>GT</b>	6.7	+/-1.32	
<b>TAD**</b>	<b>GG</b>	73.55	+/-9.84	<b>0.003</b>
	<b>TT</b>	84.7	+/-7.27	
	<b>GT</b>	81.82	+/-12.74	
<b>TAS**</b>	<b>GG</b>	127.94	+/-18.2	0.066
	<b>TT</b>	140.70	+/-12.04	
	<b>GT</b>	137.45	+/-20.9	

\*en mg/dl  
\*\*en mmHg  
sig < 0.05

Tabla 7  
Comparaciones múltiples (T3 Dunnett y Bonferroni)

Variable dependiente	SNP rs833060		Sig.	Intervalo de confianza al límite inferior
<b>AU* 3 años</b>	GG	TT	<b>0.040</b>	-2.49
		GT	1.000	-1.11
	TT	GG	<b>0.040</b>	.042
		GT	0.151	-.225
	GT	GG	1.000	-.519
		TT	0.151	-2.17
<b>TAD** 3 años</b>	GG	TT	<b>0.022</b>	-25.91
		GT	<b>0.009</b>	-18.55

	TT	GG	<b>0.022</b>	-5.75
		GT	1.000	-15.77
	GT	GG	<b>0.009</b>	1.66
		TT	1.000	-15.72

\*en mg/dl

\*\*en mmHg

sig ≤ 0.05

Tabla 8 (variables a 4 años)

## ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>TAD*</b>	<b>GG</b>	72.26	+/-8.81	<b>0.061</b>
	<b>TT</b>	80.6	+/-12.89	
	<b>GT</b>	79.26	+/-11.74	

\*en mmHg

sig ≤ 0.05

Tabla 9 (variables a 3 años)

## ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>Delta TFG*</b>	<b>GG</b>	-3.69	+/-4.04	<b>0.054</b>
	<b>TT</b>	1.43	+/-3.85	
	<b>GT</b>	1.65	+/-7.34	
<b>AU**</b>	<b>GG</b>	6.07	+/-1.31	<b>0.076</b>
	<b>TT</b>	7.6	+/-1.65	
	<b>GT</b>	6.82	+/-1.05	

\*en ml/min

\*\*en mg/dl

sig ≤ 0.05

En relación al polimorfismo rs25648, encontramos a 6 meses y 5 años valores de HDL mayores en homocigotos TT (P=0.012) y heterocigotos CT (P=0.025), respectivamente, al ser comparados con la expresión de otros genotipos (Tabla 10 y 12); encontramos tendencia a menores niveles de LDL, a 6 meses, en homocigotos CC (P=0.015), al ser comparados con genotipo TT y CT (P=0.084), (Tabla 10). En el análisis a 1 año se encontró tendencia a mayores niveles de colesterol total en heterocigotos CT (P=0.065) al ser comparados con

casos que expresaban genotipo CC y TT (Tabla 11). A 5 años, se encontró tendencia a mayores niveles de proteinuria por índice PrU/CrU (P=0.090) en pacientes heterocigotos CT, al ser comparados con la expresión de genotipo CC y TT. En el análisis de datos de valores actuales, se encontraron menores cifras de presión arterial tanto TAS (P=0.028) y TAD (P=0.042) en pacientes homocigotos TT, al compararlos con pacientes que expresaban genotipo CC y CT (Tabla 13).

Tabla 10 (variables a 6 meses)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>HDL*</b>	<b>CC</b>	42.11	+/-13.25	<b>0.012</b>
	<b>TT</b>	78.5	.	
	<b>CT</b>	40.44	+/-10.04	
<b>LDL*</b>	<b>CC</b>	112.5	+/-44.6	<b>0.015</b>
	<b>TT</b>	120	.	
	<b>CT</b>	136.7	+/-49.2	
<b>CT*</b>	<b>CC</b>	180	+/-49.61	0.084
	<b>TT</b>	193.7	+/-0.51	
	<b>CT</b>	197.9	+/-49.1	

\*en mg/dl  
sig  $\leq$  0.05

Tabla 11 (variables a 1 año)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>CT*</b>	<b>CC</b>	174.48	+/-46.83	<b>0.065</b>
	<b>TT</b>	159.39	+/-46.37	
	<b>CT</b>	194.36	+/-56.20	

\*en mg/dl  
sig  $\leq$  0.05

Tabla 12 (variables a 5 años)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>PrU/CrU*</b>	<b>CC</b>	1.21	+/-1.29	<b>0.090</b>
	<b>TT</b>	.	.	
	<b>CT</b>	3.03	+/-4.67	
<b>HDL**</b>	<b>CC</b>	38	+/-12.79	<b>0.025</b>
	<b>TT</b>	.	.	
	<b>CT</b>	51.1	+/-16.18	

\*en gr/gr

\*\*en mg/dl

sig ≤ 0.05

Tabla 13 (variables al momento actual)  
ANOVA

		Media	DE	Sig.
<b>TAS*</b>	<b>CC</b>	137	+/-16.68	<b>0.028</b>
	<b>TT</b>	115	+/-7.07	
	<b>CT</b>	132	+/-13.45	
<b>TAD*</b>	<b>CC</b>	79.8	+/-12.00	<b>0.042</b>
	<b>TT</b>	60	.	
	<b>CT</b>	80.2	+/-8.39	
<b>Dosis insulina**</b>	<b>CC</b>	29.38	+/-14.53	<b>0.080</b>
	<b>TT</b>	34.66	+/-21.42	
	<b>CT</b>	30.9	+/-16.90	

\*en mmHg

\*\*en UI

sig ≤ 0.05

Se calcularon curvas de sobrevida para los dos polimorfismos, para este punto se hicieron dos desenlaces, uno con TFG <60 ml/min y otro con TFG <10 ml/min.

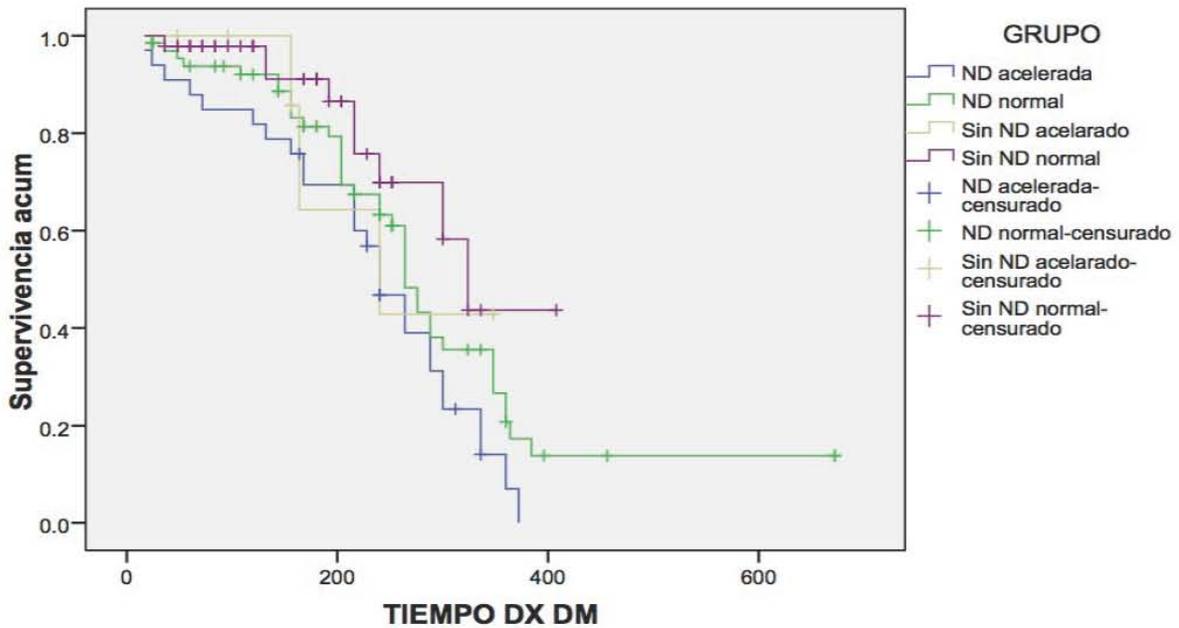
En el SNP rs833060, se encontró diferencia estadísticamente significativa en sobrevida para los pacientes heterocigotos y homocigotos GG, para ambos desenlaces (TFG <60 y 10

ml/min), mostrando una menor estimación de sobrevida para estos haplotipos y su presencia en pacientes con ND con evolución clínica acelerada. (Tabla 14)

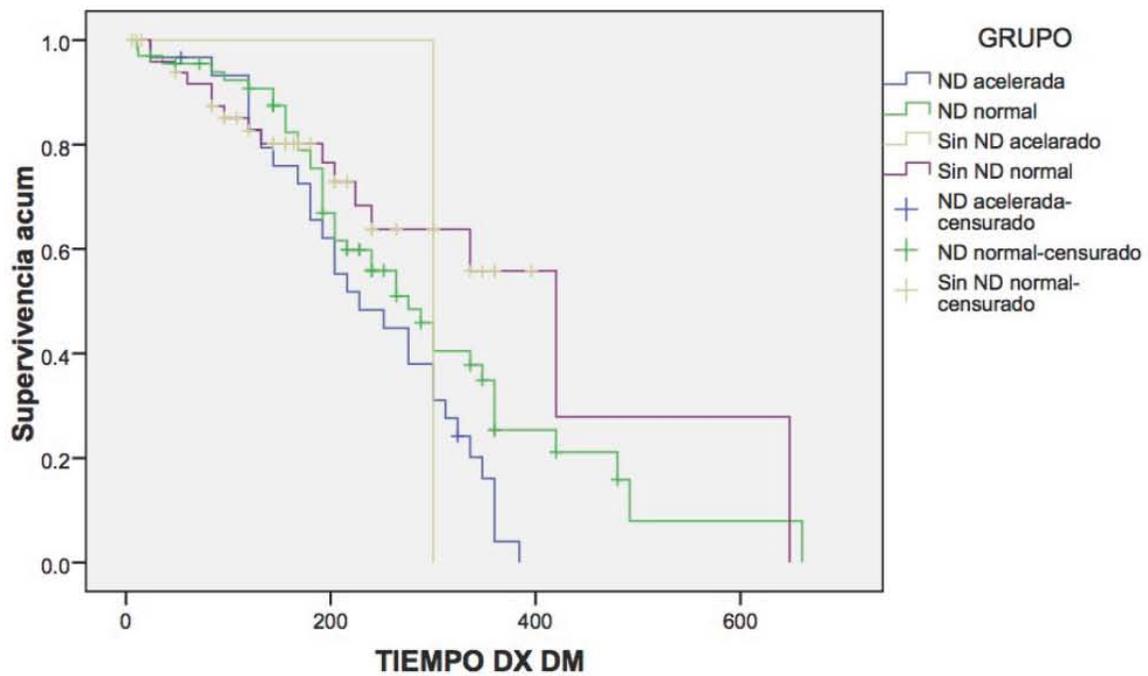
Tabla 14. KAPLAN-MEIER					
TFG <60 y <10 ml/min					
SNP rs833060	Grupo	Media			
		Estimación	Error std	Sig	Sig
GG	ND acelerada	230.28	18.81	<b>0.050</b>	<b>0.000</b>
	ND normal	305.94	26.07		
	Sin ND	258.00	36.86		
	acelerada	316.09	23.11		
	Sin ND	299.99	18.76		
	normal				
TT	ND acelerada	195.00	39.95	0.261	0.352
	ND normal	254.63	37.75		
	Sin ND	300.00	.000		
	acelerada	295.20	25.80		
	Sin ND	265.32	24.65		
	normal				
GT	ND acelerada	236.87	18.30	<b>0.038</b>	<b>0.000</b>
	ND normal	302.30	25.02		
	Sin ND	300.00	.000		
	acelerada	375.60	58.40		
	Sin ND	293.03	17.06		
	normal				
	Global				

Desenlace TFG <60 ml/min

polimVEGF83 = GG

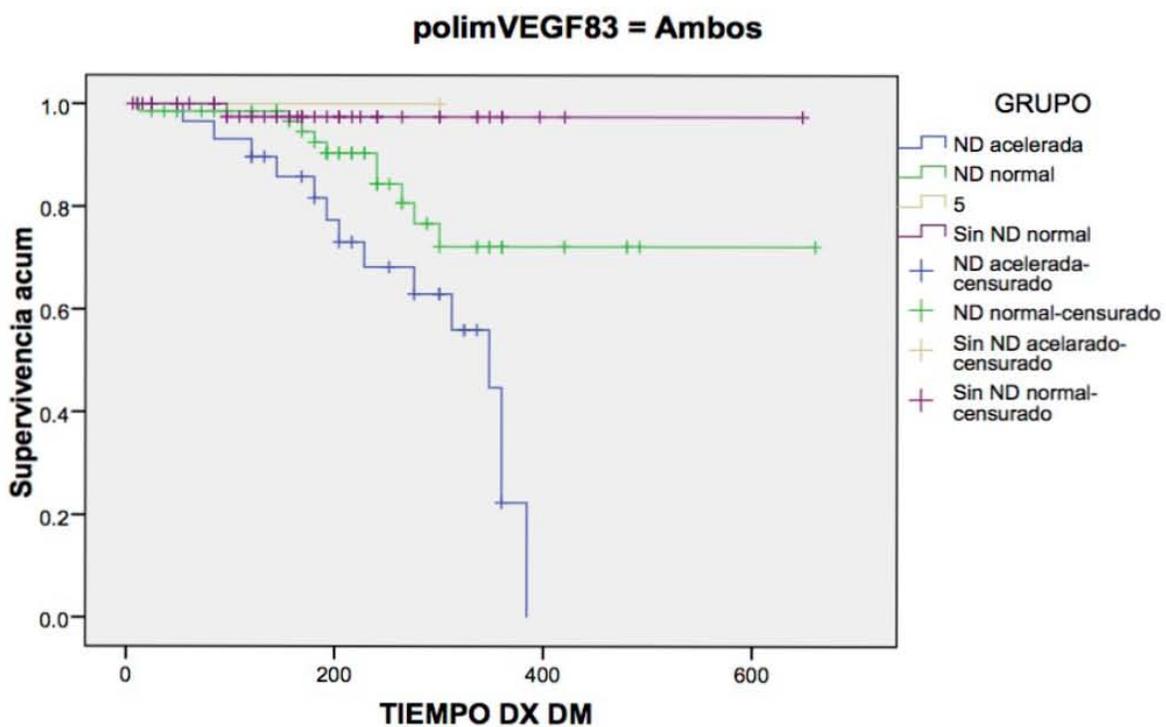
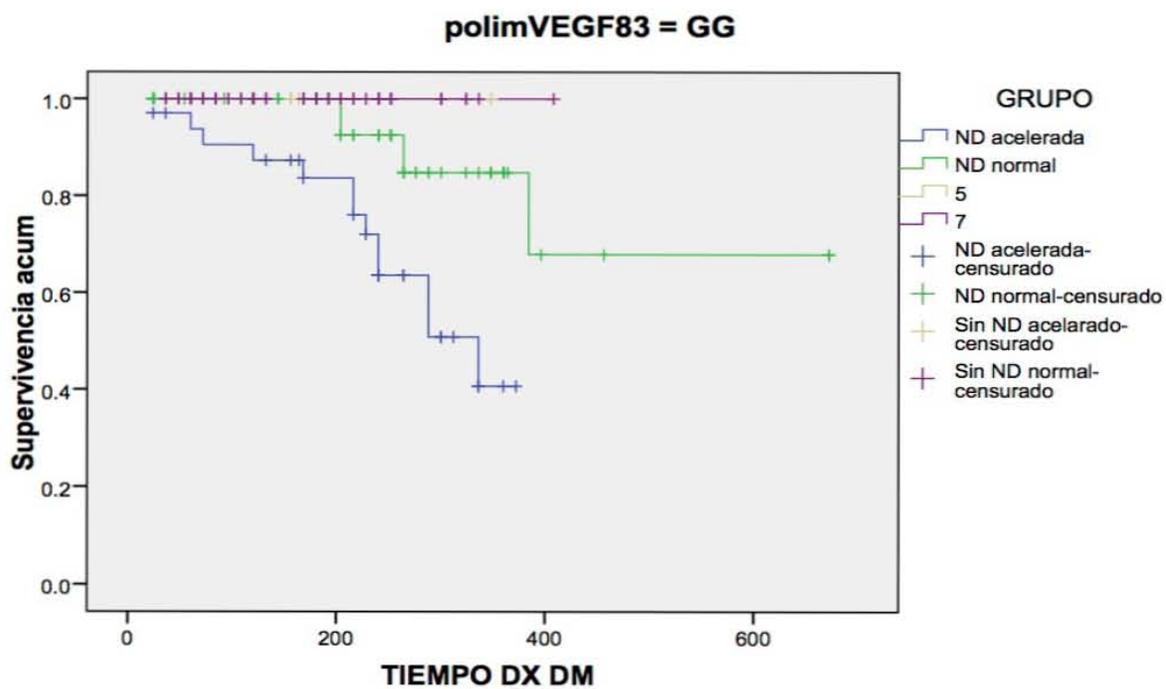


polimVEGF83 = Ambos



Desenlace TFG <10 ml/min

## Funciones de supervivencia



En el SNP rs25648, se encontró diferencia estadísticamente significativa en sobrevida para los pacientes heterocigotos y homocigotos CC, para ambos desenlaces (TFG <60 y 10 ml/min) mostrando una menor estimación de sobrevida para estos haplotipos y su presencia en pacientes con ND con evolución clínica acelerada. (Tabla 15)

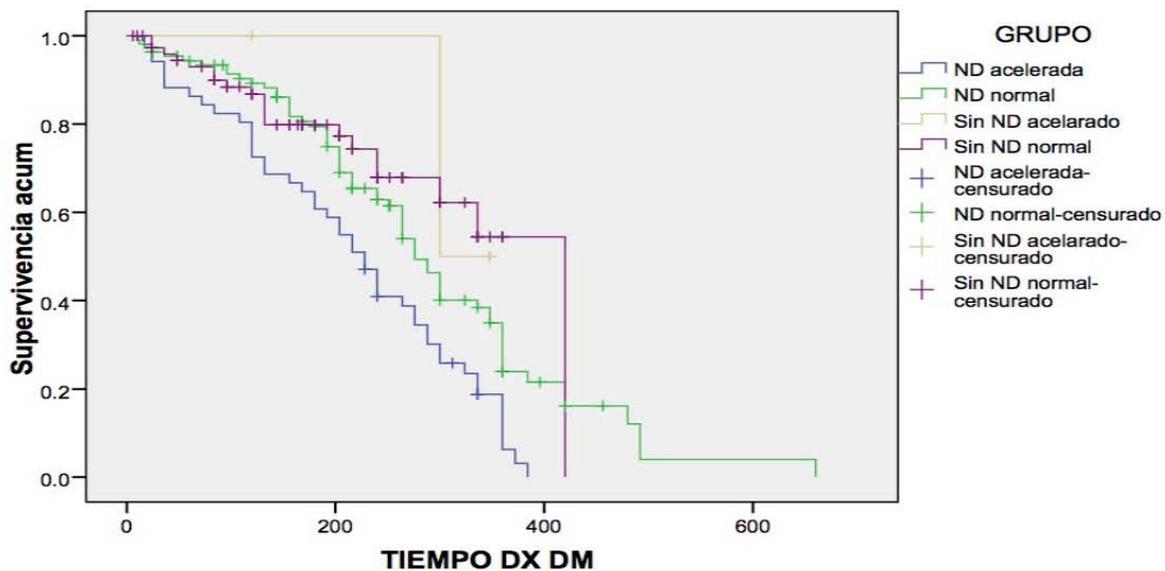
Tabla 15. KAPLAN-MEIER  
TFG <60 y <10 ml/min

SNP rs25648	Grupo	Media			
		Estimación	Error std	Sig	Sig
CC	ND acelerada	230.28	18.81	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>
	ND normal	305.94	26.07		
	Sin ND	258.00	36.86		
	acelerada	316.09	23.11		
	Sin ND	299.99	18.76		
	normal				
TT	Global				
	ND acelerada	195.00	39.95	.	.
	ND normal	254.63	37.75		
	Sin ND	300.00	.000		
	acelerada	295.20	25.80		
	Sin ND	265.32	24.65		
CT	normal				
	Global				
	ND acelerada	236.87	18.30	<b>0.027</b>	<b>0.003</b>
	ND normal	302.30	25.02		
	Sin ND	300.00	.000		
	acelerada	375.60	58.40		
Sin ND	293.03	17.06			
	normal				

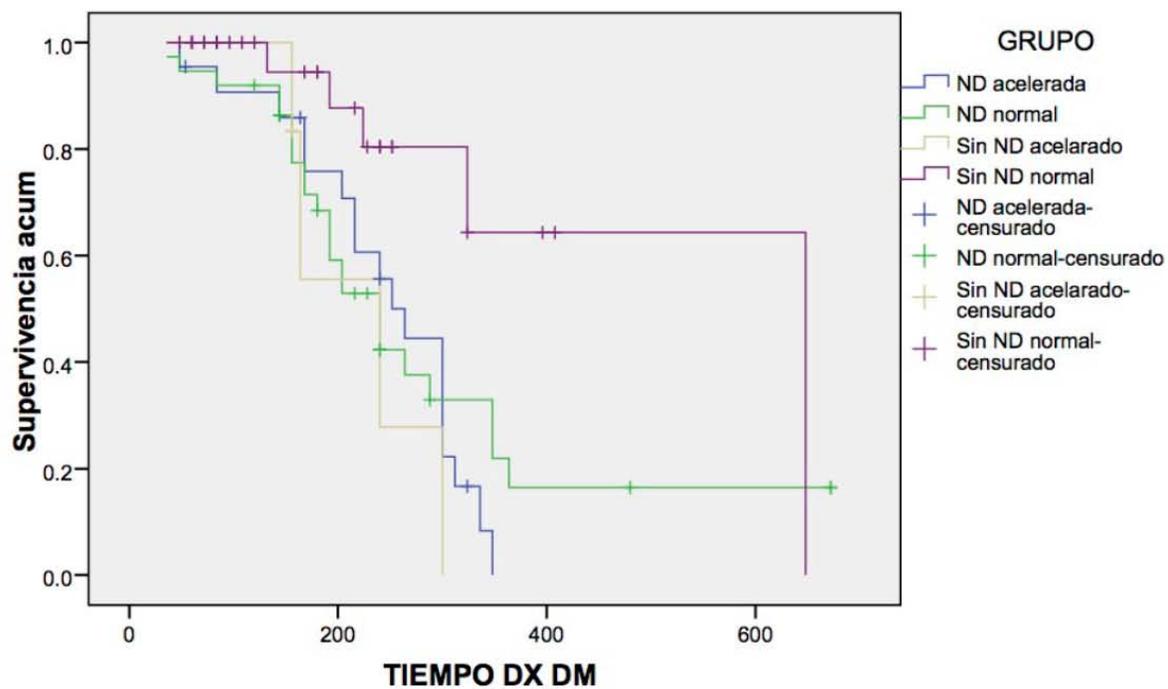
Desenlace <60 ml/min

Funciones de supervivencia

polimVEGF25 = CC

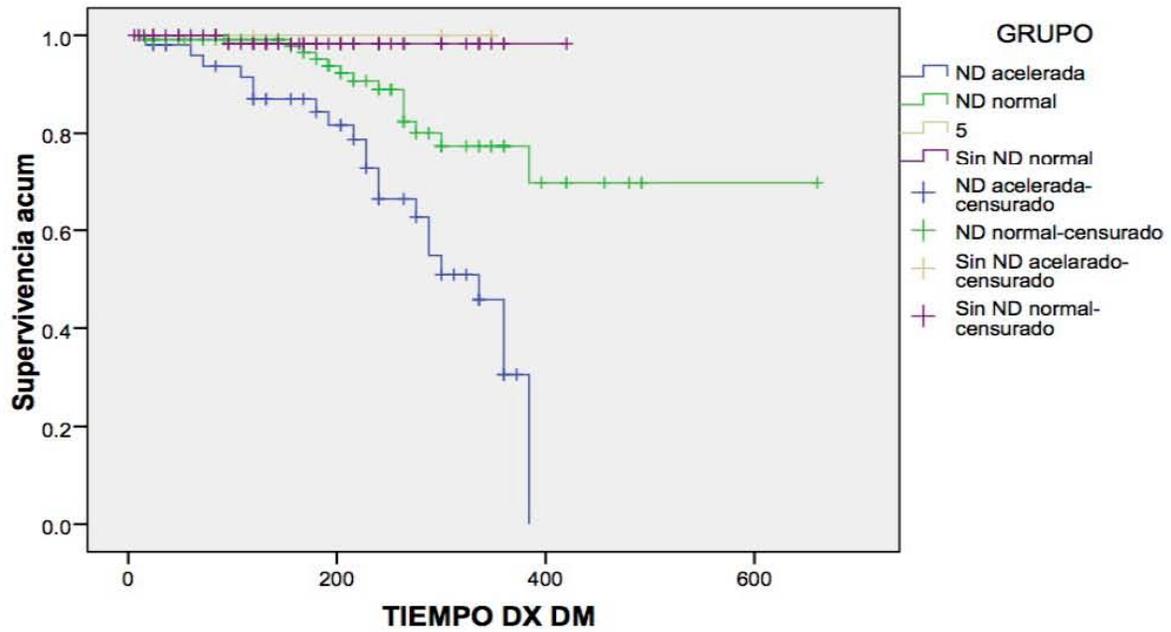


polimVEGF25 = ambos

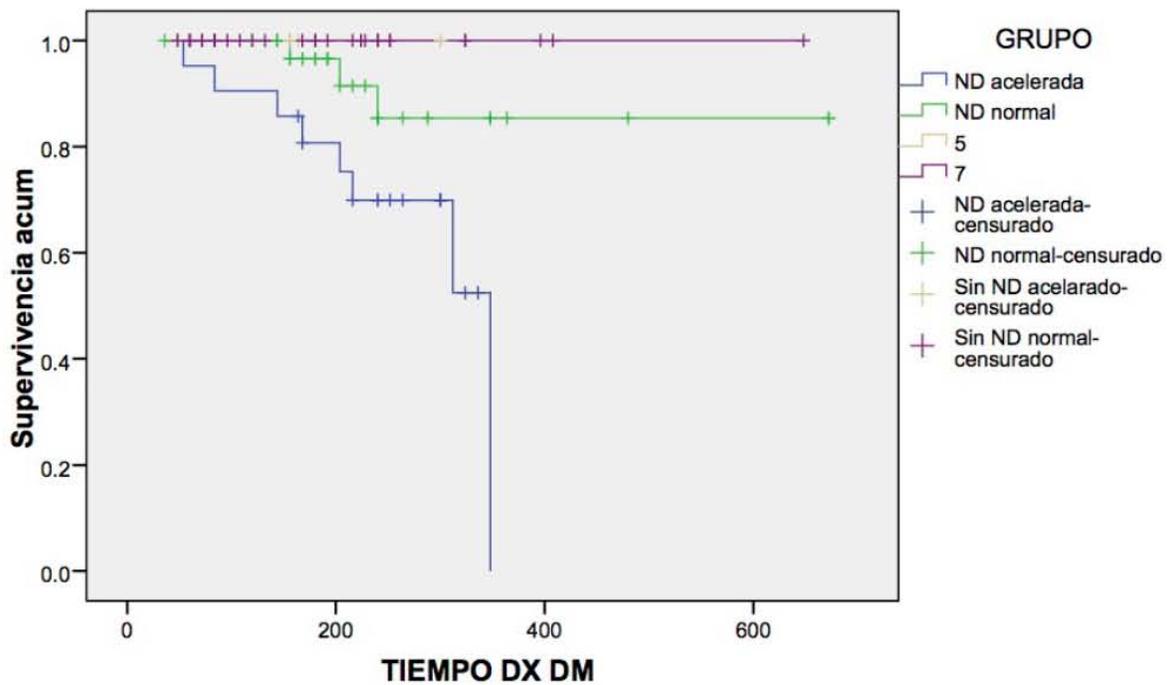


Desenlace <10 ml/min

polimVEGF25 = CC



polimVEGF25 = ambos



Al final del estudio 155 pacientes (44.8%) se encontraban vivos y con función renal conservada, 189 pacientes (54.6%) vivos con función renal perdida y 2 pacientes (0.6%) finados con función renal perdida. De estos pacientes con función renal perdida, 48 pacientes (25.3%) tenían TFG <10 ml/min y únicamente 28 pacientes (14.8%) se encontraban en terapia de soporte renal.

## **DISCUSIÓN**

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de los polimorfismos G/T rs 833060 y C/T rs256648, así como evaluar si existía algún riesgo asociado al genotipo para el desarrollo de nefropatía diabética (ND) con evolución clínica acelerada. Existen diversos estudios que han evaluado la relación entre los niveles de VEGF y su asociación con complicaciones cardiovasculares<sup>16,21</sup>, así mismo, se han descrito múltiples polimorfismos que pueden regular los niveles plasmáticos de VEGF<sup>22,23</sup>; sin embargo, desde nuestro conocimiento, este es el primer análisis de haplotipo del gen de VEGF en una cohorte de pacientes en México con DM2 que tiene diagnóstico clínico de ND y un curso clínico de evolución acelerada. Si bien, no se logró determinar una asociación significativa entre los diferentes haplotipos y la evolución clínica de la ND como objetivo primario, cabe señalar que se demostró una asociación significativa entre el genotipo heterocigoto G/T rs833060 y un mayor deterioro de la función renal medido por CrS y CrCl a 1 año del diagnóstico de ND, dicha relación no se mantuvo a lo largo de 5 años, lo cual pensamos se pudiera explicar por un tamaño de muestra insuficiente. Los trabajos de Cha et al<sup>16</sup> y Shimada et al<sup>17</sup>, demuestran que los niveles urinarios y expresión de VEGF no están relacionados con el deterioro de la función renal medido por CrS, a diferencia de lo encontrado en nuestro estudio; sin embargo, cabe destacar que los estudios mencionados no involucran polimorfismo del VEGF ni haplotipos. En este sentido, los estudios con genotipo del VEGF

y su asociación con la evolución clínica de ND, son en DM1, como el estudio de Summers et al<sup>24</sup>, quien encontró un incremento en el alelo -460T en pacientes con microalbuminuria o proteinuria comparado con pacientes con normoalbuminuria, así mismo los pacientes con el alelo D y el genotipo DD del polimorfismo D/I en la región promotora -2549 del gen de VEGF fueron asociados con susceptibilidad para ND en DM1<sup>25</sup>. En ninguno de los estudios descritos se evidenció una asociación entre el genotipo y niveles incrementados de CrS, relación que nosotros encontramos estadísticamente significativa en la población estudiada. Así mismo, encontramos un mejor control de TAS y TAD en pacientes homocigotos GG rs833060 y homocigotos TT rs25648. Trzonkowska et al<sup>19</sup>, describe una mayor incidencia de hipertensión arterial en pacientes con niveles elevados de VEGF. Hamedian AA et al<sup>26</sup>, reporta que el polimorfismo +405 VEGF C/G (rs2010963) está asociado con mayores cifras de presión arterial sistémica en pacientes con diabetes, sugiriendo la presencia del alelo G y el genotipo GG o CG como un factor de susceptibilidad para el desarrollo de hipertensión en esta población, adiferencia de los resultados encontrados en nuestra población, en donde el genotipo GG fue asociado con menores cifras de presión arterial.

Encontramos una tendencia a mayor excreción de proteínas urinarias en pacientes heterocigotos C/T rs25648, lo cual concuerda con hallazgos en la literatura, como el trabajo de Nikzamir et al<sup>27</sup>, en donde se observó que el alelo G no estaba asociado con albuminuria pero el genotipo GG en el gen de VEGF estaba independientemente asociado con el desarrollo de nefropatía en la población diabética. Dichos estudios sugieren que el VEGF podría ser un mediador potencial en la hiperfiltración glomerular y proteinuria en ND y, de forma potencial, anticuerpos contra el VEGF en etapas tempranas de diabetes experimental pudieran aminorar la disfunción renal<sup>28</sup>. Por otro lado, también existen reportes que contradicen dichos resultados, como los trabajos de Buraczynska et al<sup>29</sup>, y Ray et al<sup>30</sup>. Sin

embargo, los resultados de los estudios que evalúan el desarrollo de proteinuria han sido variables, Lenz et al., indica una correlación entre VEGF urinario y albuminuria en DM2, pero no así en DM1 con enfermedad renal<sup>31</sup>.

En nuestros resultados encontramos un perfil lipídico favorable en homocigotos TT rs25648, quienes presentaban mayores niveles de HDL (42 mg/dl +/- 13.2). En el estudio realizado por Yap RW et al<sup>20</sup>, se describe un perfil lipídico alterado en pacientes asiáticos con alelo T en SNP rs1870377 y rs2071559, de forma similar, en nuestro estudio encontramos en pacientes con alelo T del SNP rs25648 alteraciones en el perfil lipídico.

Importante señalar que en nuestro estudio, observamos niveles elevados de ácido úrico en pacientes con genotipo TT rs833060. Esto nos parece importante pues existen estudios que han considerado el rol del ácido úrico en la disfunción endotelial a través de mecanismos locales de estrés oxidativo, además de que la hiperuricemia (niveles 6-9 mg/dl) se considera un factor de riesgo cardiovascular, así como de un factor implicado en la progresión de la enfermedad renal<sup>32</sup>.

En conclusión, mostramos por primera vez en una población mexicana con DM2, que el genotipo G/T rs833060 del gen de VEGF se encuentra independientemente asociado con una mayor deterioro de la función renal medido por CrS y, que los genotipos GG rs833060 y TT rs25648 del gen de VEGF se asocian con mejor control tensional en pacientes con nefropatía diabética. La frecuencia de los polimorfismos específicos estudiados no fue asociada con una evolución clínica acelerada de ND. Dicho esto, es posible una interacción ambiente-genética pueda tener un rol significativo en la predisposición y desarrollo de nefropatía diabética. Estas observaciones enfatizan la importancia de la localización geográfica y la herencia de los sujetos en el estudio de genotipos y su asociación con la enfermedad renal. Así mismo, estos hallazgos afirman la necesidad de considerar factores

étnicos en la evaluación de factores de riesgo genéticos, además de reforzar la necesidad de análisis adicionales para clarificar la contribución real de los diferentes genotipos de VEGF en el desarrollo y/o progresión de la ND en diferentes población.

## CONCLUSIONES

- Pacientes heterocigotos SNP rs833060 presentan mayores niveles de CrS y menor CrCl a 1 año de diagnóstico de ND.
- Pacientes homocigotos GG del SNP rs833060 y homocigotos TT rs25648 presentan menores cifras de TAS y TAD a 2,3 y 4 años de seguimiento del diagnóstico de ND.
- Pacientes homocigotos TT del SNP rs833060 presentan mayores niveles de ácido úrico a los 3 años de seguimiento de ND
- Los pacientes homocigotos GG presentan mejor estimación de sobrevida de forma estadísticamente significativa, para desenlaces definidos con TFG <60 ml/min y <10 ml/min
- Pacientes homocigotos TT del SNP rs25648 presentan mayores niveles de HDL a 6 meses de diagnóstico de ND,

**BIBLIOGRAFÍA**

- <sup>1</sup> International Diabetes Federation. <http://www.eatlas.idf.org/incidencia/>
- <sup>2</sup> World Health Organization. <http://www.who.int/diabetes/facts/index.html>
- <sup>3</sup> Cortés P, Mogensen CE. Prefacio. En su: Contemporary Diabetes: The Diabetic Kidney. New Jersey, Humana Press, 2006. Pp. Ix.
- <sup>4</sup> Federación Mexicana de Diabetes. <http://fmdiabetes.com/>
- <sup>5</sup> Vora JP, Ibrahim Hisham AA. Clinical manifestation and natural history of diabetic nephropathy. En: Johnson RJ y Feehally J., ed. Comprehensive Clinical Nephrology. Philadelphia, Mosby Elsevier. 2004. Pp. 425-437
- <sup>6</sup> Woredek Y, Friedman EA. Clinical aspects of diabetic nephropathy. En: Schrier RW., ed. Diseases of the kidney and urinary tract. Denver, Lippincott Williams and Wilkins. 2007. Pp. 1894-1908
- <sup>7</sup> Parving HH, Mauer M, Ritz E. Diabetic Nephropathy. En: Brenner y Rector's, ed. The Kidney, Philadelphia, Saunders Elsevier. 2007. Pp. 1265-1269
- <sup>8</sup> Cooper ME, Gilber RE. Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy. En : Johnson RJ y Freehally J., ed Comprehensive Clinical Nephrology. Philadelphia, Mosby Elsevier. 2004. Pp. 439-450
- <sup>9</sup> Mezzano SA, Ruiz Ortega M, Egidio J. Angiotensin II and Renal Fibrosis. Hypertension, 38(3): 635-638, Septiembre 2001
- <sup>10</sup> Takhiki Nakagawa et al., Endothelial Dysfunction as a potential contributor in Diabetic Nephropathy. Nat Rev Nephrol 2011, Jan; 7(1): 36-44
- <sup>11</sup> Andrew Advani et al., The endothelium in diabetic nephropathy. Seminars in Nephrology, Vol 32, No 2, 2012, 199-207

<sup>12</sup> Amanda Adler et al., Genetics of vascular complications in Diabetes mellitus. *Cardiol Clin*, 28 (2010); 477-496

<sup>13</sup> Amanda Adler, et al., Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kid International*, 63 (2003); 225-232

<sup>14</sup> Kim NH, Oh JH, Seo Ja et al (2005) Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and soluble VEGF receptor FLT-1 in diabetic nephropathy, *Kidney Int* 67:167-177

<sup>15</sup> Satchell et al., What is the mechanism of microalbuminuria in diabetes: role for the glomerular endothelium. *Diabetologia* (2008); 51: 714-725

<sup>16</sup> Cha DR, Kim NH, Yoon JW, et al: Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 44:959-966, 1993

<sup>17</sup> Shimada K, Baba T, Neugebauer S, et al: Plasma vascular endothelial growth factor in japanese type 2 diabetic patients. *Clin Sci* 102: 187-194, 2002

<sup>18</sup> Bicke F Schirijvers et al: The role of VEGF in renal pathophysiology. *Kidney Int*, 65(2004);2003-17 Abstract; Summers AM et al, *J Am Soc Nephrol*, 13:248A,2002

<sup>19</sup> Trzonkoska Marek, Kwieczynska, et al: Arterial hypertension is characterized by imbalance of pro-angiogenic versus anti-angiogenic factors. *PloS One*. 2015; 10(5):e0126190.doi: 10.1371/journal.pone.0126190. eCollection 2015

<sup>20</sup> Yap RW, Shidoji Y, et al: Interaction between VEGF receptor-2 gene polymorphisms and dietary patterns on blood glucose and lipid levels in chinese Malaysian adults. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2001; 4(6):309-21

<sup>21</sup> Wasada T, et al. plasma concentration of immunoreactive vascular endothelial growth factor and its relationship to smoking. *Metabolism*. 1998; 47:27-30

- <sup>22</sup> Renner W, et al. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res.* 2000; 37(6):443-448
- <sup>23</sup> Watson CS, et al. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variations in VEGF protein production. *Cytokine.* 2000; 12(8):1232-1235
- <sup>24</sup> Abstract. Summers AM, et al. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:248<sup>a</sup>
- <sup>25</sup> Yang B, et al. Polymorphism of the vascular endothelial growth factor and susceptibility to diabetic microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2003; 17:1-6
- <sup>26</sup> Hamedian AA, et al. VEGF +405 C/G polymorphism is associated with essential hypertension in population from teheran of Iran. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(5):6213-6218
- <sup>27</sup> Nikzamir A, et al. The role of vascular endothelial growth factor +405 C/G polymorphism and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(2):881-886
- <sup>28</sup> De Vriese AS, et al. Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12:993-1000
- <sup>28</sup> Burakzyska M, et al. Associations of the vascular endothelial growth factor gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22:827-832
- <sup>30</sup> Ray D, et al. Association of the vascular endothelial growth factor gene with proliferative diabetic retinopathy but not proteinuria in diabetes. *Diabetes.* 2004; 55: 861-864
- <sup>31</sup> Lenz T, et al. Vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Blood Press Res.* 2003; 26(5-6):338-343

<sup>32</sup>Goicoechea M, et al. Effects of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5:1388-1393

**ABREVIATURAS**

AG II	Angiotensina II
AU	Ácido úrico
Col	Colesterol
CrCl	Aclaramiento de creatinina
CrS	Creatinina sérica
DM	Diabetes mellitus
ERC	Enfermedad renal crónica
ERCT	Enfermedad Renal Crónica Terminal
HDL	Colesterol de alta densidad
LDL	Colesterol de baja densidad
ND	Nefropatía diabética
NPD	Nefropatía diabética
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno 1
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
TAD	Presión arterial diastólica
TAS	Presión arterial sistólica
TGF	Factor de crecimiento tumoral
TFG	Tasa de filtrado Glomerula
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
vWF	Factor de von Willebrandt