



HOSPITAL GENERAL TERCER MILENIO

CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO INSERCIÓN/DELECIÓN
DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE
ANGIOTENSINA CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA
TERMINAL EN TRATAMIENTO SUSTITUTIVO RENAL
MODALIDAD HEMODIÁLISIS**

PRESENTA

Elizabeth Aguilar Pérez

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTEGRADA**

ASESOR

Dr. Jorge Fernando Topete Reyes

COMITÉ TUTORIAL

**Dr. Francisco Javier Serna Vela
Dr. Luis Fernando Barba Gallardo**

Aguascalientes, Ags. Febrero 2015



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

ELIZABETH AGUILAR PÉREZ
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTEGRADA
P R E S E N T E

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

“ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO INSERCIÓN/DELECIÓN DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TERMINAL EN TRATAMIENTO SUSTITUTIVO RENAL MODALIDAD HEMODIÁLISIS”

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:
Especialista en Medicina Integrada

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”
Aguascalientes, Ags., 26 de Enero de 2015.

DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

c.c.p. C. P. Ma. Esther Rangel Jiménez / Jefe de Departamento de Control Escolar
c.c.p. Archivo

CARTA DE ACEPTACIÓN PARA IMPRESIÓN DE TESIS

Tesis para obtener el Título de

ESPECIALISTA EN MEDICINA INTEGRADA

Título de Tesis:

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO INSERCIÓN/DELECIÓN DEL GEN DE LA ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TERMINAL
EN TRATAMIENTO SUSTITUTIVO RENAL MODALIDAD HEMODIÁLISIS**

Presenta:

Elizabeth Aguilar Pérez


Residente del segundo grado de la Especialidad de Medicina Integrada del
Adulto


Dr. Jorge Fernando Topete Reyes

Médico Internista Adscrito al Hospital General Tercer Milenio


Dr. Francisco Javier Serna Vela

Asesor Metodológico de Tesis ISSEA


Dr. Luis Fernando Barba Gallardo

Asesor Metodológico UAA

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN

Aguascalientes, Ags, 26 de Enero de 2015

A quien corresponda:

El comité estatal de investigación en salud, basado en los estatutos contenidos en el manual de investigación en salud, ha tenido a bien revisar el protocolo de investigación intitulado **“Asociación del Polimorfismo Inserción/Deleción del gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina con Enfermedad Renal Crónica Terminal en Tratamiento Sustitutivo Renal Modalidad Hemodiálisis”**

Otorgando el Dictamen de **“ACEPTADO”** número de registro: **2ISSEA-03/15**

Investigador (s) de proyecto:
Dra. Elizabeth Aguilar Pérez

Investigador principal (es) y Asesor (es) del proyecto:
Dr. Jorge Fernando Topete Reyes
Dr. Francisco Javier Serna Vela
Dr. Luis Fernando Barba Gallardo


Lugar de desarrollo de la Investigación
Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital General Regional 46, Guadalajara, Jalisco

Clasificación:
Trabajo de Investigación: Tesis de Especialidad Médica

Esperando que este proyecto de investigación redunde en beneficio a nuestra población, nos ponemos a sus órdenes.

ATENTAMENTE


Dr. Javier Góngora Ortega
Secretario Técnico

 **UNIDAD
DE INVESTIGACION
EN SALUD**
ISEA

C.c.p.- Archivo.



AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por haberme dado sabiduría, fortaleza, salud, coraje y paciencia, por no dejarme sola en los momentos difíciles y haberme permitido llegar a la meta de este proyecto.

A MI MADRE:

Esther, con todo mi amor para ti, que hiciste todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ti por darme incondicionalmente el amor más puro y sincero que yo pueda necesitar, por siempre para ti todo mi amor y mi agradecimiento, sin ti yo no sería lo que soy, te amo Omy.

A MIS HERMANOS:

Carmen, David, Angelica, Francisco y Osvaldo por su apoyo incondicional, por siempre estar conmigo cuando más los he necesitados, por compartir los buenos y los malos momentos, los amo hermanos.

A MIS SOBRINAS:

Nathalie, Harumi y Monsterrat por esperarme con paciencia y entender que no estuviera con ellas en fechas especiales, las amo mis niñas.

A MIS MAESTROS:

Dr. Flores Parkman, Dra. Pacheco, Dr. Alvizo, Dr. Topete y a todos los médicos adscritos que han contribuido en mi formación, por haberme dado no solo sus conocimientos médicos, sino también sus experiencias de vida, por hacer de mí una mejor persona con cada comentario y cada experiencia que compartían conmigo, mi cariño y agradecimiento incondicional siempre para ustedes.

A MIS ASESORES:

Dr. Topete, Dr. Serna y Dr. Barba por su paciencia y apoyo siempre que yo sentía que no terminaba esta tesis, mi agradecimiento eterno.

A MIS AMIGAS:

Areli, Liz, Ale, Paty y Lu por su apoyo y cariño siempre, gracias por ser parte de mi vida por tantos años, por escucharme y aun en la distancia hacerme sentir que nunca estuve sola, las quiero.

Fede, amigo, gracias por las pláticas, que siempre hicieron más amenos los momentos compartidos.

Karla, amiguita, siempre me dijiste las palabras justas en los momentos necesarios, no sabes cómo extraño el cafecito de la mañana, una buena platica y por supuesto tu extraordinaria compañía. Te quiero mucho amiguita.

Itzel y Perla por compartir conmigo locuras, alegrías, tristezas porque, hicieron de estos dos años más llevaderos con cada experiencia que compartí con ustedes, por su apoyo y ayuda incondicional, por estar ahí siempre que las necesite, las quiero muchísimo.

Por ultimo pero no menos importante a mis compañeros de Residencia que compartieron conmigo tantas cosas y por todas esas vivencias que se quedaron guardadas en mis recuerdos, por haber compartido conmigo esta aventura.

DEDICATORIA

A mi Omy, mi héroe, mi guía, mi ejemplo de fortaleza, la mejor mamá que Dios me pudo haber prestado, gracias por todo el esfuerzo, apoyo y confianza que siempre has depositado en mí, por ser siempre mi mejor amiga, siempre incondicional aunque no siempre estés de acuerdo en mis decisiones. Gracias porque siempre me hiciste sentir que estabas conmigo, aunque estos dos años físicamente estuvimos distanciadas por algunos kilómetros. Te amo Omy.

A mi amor, mi compañero, el hombre de mi vida, porque siempre me diste palabras de aliento, las palabras justas para hacerme sentir mejor, porque me dabas un enfoque objetivo en cada problema que se presentaba, por tu confianza, tu paciencia y tu apoyo siempre incondicional cuando más sola me sentía, porque a pesar de la distancia me hiciste sentir querida. Gracias por estar presente en mi vida. Te amo Alfonso.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE TABLAS	3
ACRÓNIMOS	4
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.....	10
1.1 Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERCT)	10
1.2 Etiología y fisiopatología.....	11
1.3 Manifestaciones Clínicas.....	13
1.4 Evaluación de la Enfermedad Renal Crónica	16
1.6 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.....	17
1.6 Angiotensina II y otros tipos de Angiotensina.....	18
1.7 Receptor AT1	19
1.8 Mecanismos de señalización clásicos mediados por proteína G	21
1.9 Efectos de Ang II independientes de proteína G.....	22
1.9 Activación de la vía janus cinasa (JAK)/ Transductor de Señal y Activador de Transcripción (STAT)	22
1.10 Efectos de Ang II a nivel renal	23
1.11 Otros efectos de la Angiotensina II.....	24
1.12 Enzima Convertidora de Angiotensina	25
1.13 Gen ACE	26
1.13 Marco normativo.....	31
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA.....	32
2.1 Justificación y Planteamiento del problema	32
2.2 Pregunta de investigación.....	37
2.3 Hipótesis	37
2.3.1 Hipótesis alterna (Ha)	37

2.3.2 Hipótesis Nula (Ho)	37
2.4 Objetivos generales	37
2.5 Objetivos específicos	37
CAPÍTULO III. MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS.....	39
3.1 Tipo de estudio.....	39
3.2 Universo del estudio	39
3.3 Características Unidad Hemodiálisis HGR 46.....	39
3.4 Población y Muestra	39
3.5 Variables	39
3.5.1 Variable independiente	39
3.5.2 Variables dependientes.....	39
3.5.3 Variables confusoras	40
3.6 Operacionalización de variables.....	41
3.6 Criterios de Inclusión	42
3.7 Criterios de eliminación	42
3.8 Recolección de la información.....	43
3.9 Técnicas del laboratorio.....	43
3.10 Proceso de información	46
3.11 Recursos para el estudio	46
3.12 Análisis estadístico	47
3.13 Consideraciones éticas	47
RESULTADOS	48
DISCUSIÓN	53
CONCLUSIÓN.....	56
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios en los que se investiga la asociación del polimorfismo I/D con enfermedades.....27

Tabla 2. Distribución de alelos y genotipos del polimorfismo I/D de ACE en diferentes grupos étnicos de México.....29

Tabla 3. Asociación del polimorfismo I/D de ACE con ERCT.....30

Tabla 4. Operacionalización de variables.....41

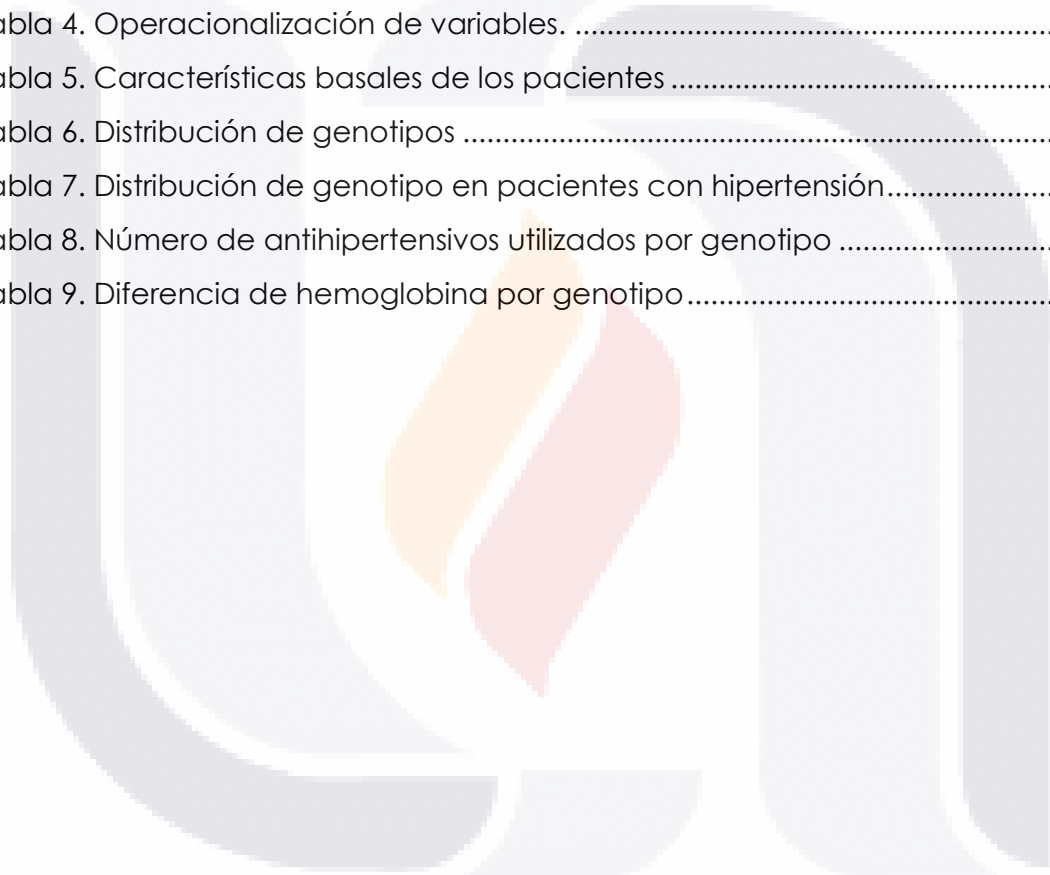
Tabla 5. Características basales de los pacientes.....49

Tabla 6. Distribución de genotipos.....50

Tabla 7. Distribución de genotipo en pacientes con hipertensión.....51

Tabla 8. Número de antihipertensivos utilizados por genotipo.....51

Tabla 9. Diferencia de hemoglobina por genotipo.....52



ACRÓNIMOS

ERCT: Enfermedad Renal Crónica Terminal
 ACE: Enzima Convertidora de Angiotensina
 KDOQI: Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
 ERC: Enfermedad Renal Crónica
 ERCT: Enfermedad Renal Crónica Terminal
 HGR: Hospital General Regional
 IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social
 TRR: Terapia de reemplazo renal
 KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes
 MDRD: Modification of Diet in Renal Disease
 DM: Diabetes Mellitus
 HAS: Hipertensión Arterial Sistémica
 PTH: Paratohormona
 Ang: Angiotensina
 AT 1: Receptor de Angiotensina 1
 AT2: Receptor de Angiotensina 2
 GRK: Receptor de proteína G
 NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido
 AMPc: Adenosín monofosfato cíclico
 EGF: Factor de crecimiento epidémico
 ERK: Cinasas extra celulares reguladoras
 MAPK: Cinasa activador a de mitógenos
 bFGF: Factor de crecimiento fibroblástico básico
 PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas
 IGF: Factor de crecimiento insulínico
 JAK: Janus cinasa
 STAT: Transductor de señal y activador de transcripción
 CTGF: Factor de crecimiento de tejido conectivo
 MCP1: Proteína químico atrayente de monocitos 1

CCL2: Ligando de quimiocina CC2

OPN: Osteopontina

NFAT: Factor de activación nuclear de células T

CK2: Cinasa de caseína 2

COX2: Ciclooxigenasa 2

I: Inserción

D: Delección

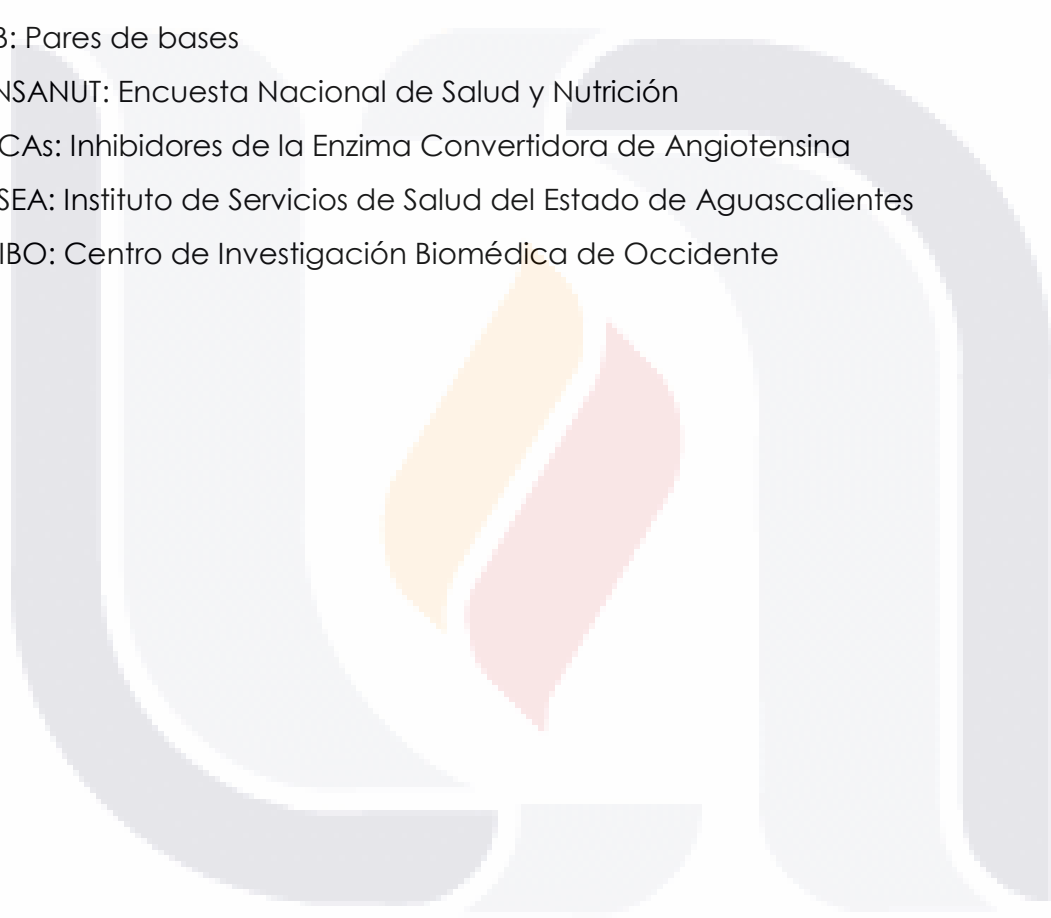
PB: Pares de bases

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

IECAs: Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina

ISSEA: Instituto de Servicios de Salud del Estado de Aguascalientes

CIBO: Centro de Investigación Biomédica de Occidente



RESUMEN

Antecedentes: El sistema renina-angiotensina-aldosterona no solo está implicado en diversas enfermedades cardiovasculares sino que tiene un papel determinante en la fisiopatología renal y en la progresión de las enfermedades renales. Diversos estudios sugieren la importancia del polimorfismo I/D del gen de ACE en la progresión de las enfermedades renales y probablemente en la mortalidad cardiovascular de los pacientes con insuficiencia renal.

Objetivo: Conocer la asociación de alelos y genotipos particulares del polimorfismo I/D del gen ACE con ERCT.

Métodos: Se incluyeron pacientes con ERCT de la Unidad de hemodiálisis del HGR 46 del IMSS, se realizó extracción de sangre periférica para obtener DNA a partir de leucocitos, posteriormente se llevó a cabo reacción en cadena de polimerasa para la identificación de genotipos.

Resultados: Se incluyeron 45 pacientes en hemodiálisis que reciben sesiones en la unidad del hospital general regional 46 del IMSS, la distribución por género fue 21 hombres y 24 mujeres. Las edades variaron desde los 19 hasta los 77 años. Entre los pacientes con ERCT se encontró la siguiente distribución genética I/I 12 pacientes (26.67%), I/D 23 pacientes (51.11%), D/D 10 pacientes (22.22%); mientras que los en los sujetos aparentemente sanos la distribución fue la siguiente I/I 18 (25%), I/D 38 (52.78%), D/D 16 (22.22%).

Conclusión: No hay diferencias estadísticamente significativas entre la distribución de alelos y genotipo del gen ACE en los pacientes con ERCT del HGR 46.

ABSTRACT

Background: The renin-angiotensin-aldosterone system is not only involved in various cardiovascular diseases but has a role in renal pathophysiology and progression of kidney disease. Several studies suggest the importance of ACE I / D ACE gene in the progression of kidney disease and probably in cardiovascular mortality in patients with renal insufficiency.

Objective: To determine the association of individual alleles and genotypes I / D polymorphism of the ACE gene with ESRD.

Methods: Patients with ESRD hemodialysis Unit 46 of HGR IMSS peripheral blood extraction was performed to obtain DNA from leukocytes subsequently held polymerase chain reaction for identification of genotypes.

Results: 45 patients receiving hemodialysis sessions in the unity of the regional general hospital 46 of the IMSS were included; the gender distribution was 21 males and 24 females. Ages ranged from 19 to 77 years. Among patients with ESRD gene delivery the following I / I 12 patients (26.67%), I / D 23 patients (51.11%), D / D 10 patients (22.22%) was found; while apparently healthy individuals in the distribution was I / I 18 (25%), L / R 38 (52.78%), D / D 16 (22.22%).

Conclusion: No statistically significant differences between the distribution of allele and genotype of the ACE gene in patients with ESRD from HGR 46.

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es la disminución de la función renal, expresada por una tasa de filtración glomerular (TFG) <60 ml/min/1.73m² o como la presencia de daño renal (alteraciones histológicas, albuminuria-proteinuria, alteraciones del sedimento urinario o alteraciones en pruebas de imagen) de forma persistente durante al menos 3 meses.

La identificación de factores de riesgo (de susceptibilidad, inicio y progresión) permite la aplicación de intervenciones terapéuticas en fases tempranas. En pacientes con factores de riesgo se recomienda evaluar la función renal por lo menos 1 vez al año.

La identificación de factores de susceptibilidad y de inicio es importante para reconocer a las personas con mayor riesgo de desarrollar ERC, mientras que la identificación de factores de progresión es útil para definir qué personas con ERC tienen mayor riesgo de progresar hasta las etapas finales de la enfermedad.

En la población con alto riesgo para ERC es importante la detección y modificación de todos los factores de riesgo cuando sea posible. Los pacientes y los médicos deben ser advertidos acerca de los factores de riesgo que pueden ser modificables, y por tanto, son una oportunidad de tratamiento y prevención. Se debe informar acerca de la coexistencia de factores comunes para el desarrollo de enfermedad cardíaca y renal que pueden contribuir a la progresión de ambas enfermedades.

La prevención de las complicaciones de la ERC puede ser posible con la evaluación individual de los factores de riesgo, por lo que la detección temprana y la reducción de los mismos pueden prevenir, retardar y disminuir la progresión de la enfermedad renal.

Los enfoques para identificar determinantes genéticos de HTA consisten básicamente en estudios de ligamiento en familias o en pares de hermanos afectados y en estudios de asociación. Los estudios de ligamiento en familias han servido para identificar los genes causales de diferentes formas monogénicas de hipertensión. En los últimos años, se han realizado análisis de ligamiento de algunos genes candidatos en familias con HTA utilizando marcadores informativos y uno de los métodos más utilizados es el estudio de hermanos afectados.

La intensa investigación fisiológica realizada en los últimos años ha permitido constatar que el SRAA juega un papel fundamental en el control de la PA a través de sus efectos en la homeostasis del volumen extracelular y del sodio así como de su capacidad de regular el tono vasomotor. La AT 2 además de ser un vasoconstrictor potente, actúa como moduladora, directa o indirectamente, del crecimiento de la fibra muscular lisa vascular, pudiendo contribuir además a las complicaciones vasculares de la HTA. Por ello, los diferentes componentes de este sistema, como son el angiotensinógeno, la renina, la ECA y los receptores AT1 de AT2 constituyen genes candidatos de HTA esencial.

El gen de ACE humano se encuentra localizado en el cromosoma 17q23. Concretamente, se vió que el alelo D se asociaba a unos niveles plasmáticos de ECA aumentados. Posteriormente se describió un método sencillo de detección del polimorfismo mediante amplificación de ADN genómico por PCR con cebadores específicos. Estudios en familias han demostrado que el polimorfismo I/D es en realidad un marcador genético que se encuentra fuertemente ligado a una variante funcional cuya identidad molecular se desconoce. Los niveles plasmáticos de ECA tienen una variabilidad intraindividual muy baja que contrasta con una interindividual elevada. Además, se ha demostrado que presentan una concordancia intrafamiliar importante y que están determinados genéticamente.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERCT)

Los riñones realizan varias funciones en el organismo: 1) filtran la sangre y eliminan productos de desecho del metabolismo así como sustancias endógenas y exógenas, 2) mantienen el balance hidroelectrolítico, 3) regulan el equilibrio ácido – base, 4) secretan hormonas como la eritropoyetina y la renina y 5) modifican sustancias como la vitamina D, para la regulación del fósforo y el calcio. Los riñones están constituidos por unidades funcionales llamadas nefronas formadas por un glomérulo y sistema tubular. El glomérulo está conformado por varias estructuras entre ellas un conjunto de capilares fenestrados a través de los cuales se filtran más de 150 litros de sangre al día. Este ultrafiltrado del plasma que contiene moléculas pequeñas como urea, creatinina, glucosa e iones pasa al espacio capsular y posteriormente a los túbulos. En los túbulos se reabsorbe agua y sustancias químicas útiles como aminoácidos y iones, concentrándose las sustancias de desecho y el exceso de agua que terminan excretándose en 1 ó 2 litros de orina al día. La eritropoyetina es el principal estímulo en la producción de glóbulos rojos y se secreta cuando existen niveles bajos de oxígeno en sangre. La renina es una enzima secretada por las células yuxtglomerulares como respuesta a la disminución de la tasa de filtración glomerular, regula así la presión arterial sistémica al fragmentar el angiotensinógeno en angiotensina I, la cual a su vez por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se convierte en angiotensina II. La angiotensina II tiene una fuerte acción vasoconstrictora y estimula la secreción de aldosterona que induce la reabsorción renal de sodio y la excreción de potasio.^[1]

Una amplia variedad de condiciones pueden trastornar la función renal, con manifestaciones diversas por ello fue necesario establecer definiciones precisas frecuentemente lleva a un estado terminal, en el que el paciente requiere terapia de reemplazo renal (TRR), es decir diálisis o transplante para poder vivir.^[2]

La TFG es el mejor método para calcular la función renal. Esta consiste en medir la depuración renal de una sustancia, es decir el volumen de plasma del que puede ser eliminada una sustancia completamente por unidad de tiempo [3]. Las guías Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO), recomiendan la estimación de la TFG mediante la fórmula de MDRD (Modified Diet in Renal Disease) o la de Cockcroft-Gault.[4]

Cockcroft-Gault = $((140 - \text{edad}) \times \text{peso}) / 72 \times \text{Cr sérica} \times 0.85$ si es mujer

MDRD = $(186 \times \text{Cr sérica} - 1.154 \times \text{edad} - 0.203) \times 0.742$ si es mujer $\times 1.212$ si es de raza negra

Más recientemente se ha validado la fórmula CKD-EPI

1.2 Etiología y fisiopatología

Las causas de ERC se pueden agrupar en enfermedades vasculares, enfermedades glomerulares, túbulo-intersticiales y uropatías obstructivas. Actualmente en nuestro país la etiología más frecuente es la diabetes mellitus, siendo responsable del 50% de los casos, seguida por la hipertensión arterial y las glomerulonefritis. La enfermedad renal poliquística es la principal enfermedad genética.[1]

La TFG puede disminuir por tres causas principales: pérdida del número de nefronas por daño al tejido renal, disminución de la TFG de cada nefrona, sin descenso del número total y un proceso combinado de pérdida del número y disminución de la función. La pérdida estructural y funcional del tejido renal tiene como consecuencia una hipertrofia compensatoria de las nefronas sobrevivientes que intentan mantener la TFG. La pérdida estructural y funcional del tejido renal son lo que intentan mantener la TFG. Este proceso de hiperfiltración adaptativa es mediado por moléculas vasoactivas, proinflamatorias y factores de crecimiento que a largo plazo inducen deterioro renal progresivo. En las etapas iniciales de la

ERC esta compensación mantiene una TFG aumentada permitiendo una adecuada depuración de sustancias; hasta que hay una pérdida de al menos 50% de la función renal que se ven incrementos de urea y creatinina en plasma. Cuando la función renal se encuentra con una TFG menor del 5 a 10% el paciente no puede subsistir sin TRR. Este proceso de hiperfiltración adaptativa es mediado por moléculas vasoactivas, proinflamatorias y factores de crecimiento que a largo plazo inducen deterioro renal progresivo. En las etapas iniciales de la ERC esta compensación mantiene una TFG aumentada; no es hasta que hay una pérdida de al menos 50% de la función renal que se ven incrementos de urea y creatinina en plasma. Cuando la función renal se encuentra con una TFG menor del 5 a 10% el paciente no puede subsistir sin TRR, de lo contrario se presenta el incremento sérico de toxinas urémicas que causan expresiones clínicas variadas.^[2]

El síndrome urémico es la manifestación del deterioro funcional de múltiples sistemas orgánicos secundario a la disfunción renal. Su fisiopatología se debe a la acumulación de productos del metabolismo de proteínas y alteraciones que se presentan por la pérdida de la función renal. Se han identificado sustancias tóxicas como la homocisteína, las guanidinas y la β 2 microglobulina, además de una serie de alteraciones metabólicas y endocrinas. El paciente con ERC también tiene un riesgo elevado de presentar desnutrición calórico-proteica, ya sea inducida por la enfermedad subyacente o por el tratamiento de diálisis.^[5]

Las enfermedades cardiovasculares son la causa principal de morbilidad y mortalidad en los pacientes con ERC, ocasionando 30 veces más riesgo de morir que el de la población general. Este riesgo puede ser atribuible a una correlación entre la uremia y la aterosclerosis acelerada. En pacientes con ERC es frecuente encontrar factores de riesgo cardiovasculares tradicionales, como la hipertensión arterial, dislipidemias, edad avanzada, DM y tabaquismo; así como manifestaciones asociadas a la uremia como homocisteinemia, anemia, hipervolemia, inflamación, hipercoagulabilidad y estrés oxidativo, que por sí mismas aumentan el riesgo cardiovascular.^[6]

1.3 Manifestaciones Clínicas

Un riñón con TFG normal filtra una gran cantidad de sodio, el cual es reabsorbido en su mayoría, excretándose en orina menos del 1% de la fracción filtrada. Conforme disminuye la función renal, se presentan alteraciones del balance hidroelectrolítico que se traducen en retención de sal, disminución de la capacidad de concentrar la orina y posteriormente se ve afectada la capacidad de excretar agua en orina, disminuyendo el volumen urinario diario y reteniéndose agua, lo que lleva a edema manifestado por aumento de peso e incluso insuficiencia cardíaca y edema pulmonar.

La hipertensión arterial es la complicación más común de la ERC en presencia de uremia, siendo el aumento del volumen corporal su causa principal. Por sí misma, la hipertensión causa más daño renal, cayendo en un círculo vicioso que perpetúa el deterioro de la función renal. Un alto porcentaje de pacientes con ERC desarrollan hipertrofia del ventrículo izquierdo y cardiomiopatía dilatada [7].

La disminución en la síntesis de eritropoyetina ocasiona anemia, que por lo general se observa cuando la TFG disminuye a menos de 30ml/min/1.73m². La anemia ocasiona un aumento del gasto cardíaco, hipertrofia y dilatación de las cavidades cardíacas, angina, insuficiencia cardíaca, disminución de la concentración, alteración del ciclo menstrual y del estado inmunológico.^[1]

La uremia produce disfunción plaquetaria manifestada como diátesis hemorrágica. Los pacientes de ERC también presentan acidosis, hiperglucemia, desnutrición y aumento de la osmolaridad sérica. Otra de las complicaciones de la uremia es una leve intolerancia a carbohidratos. En las mujeres con ERC es común la amenorrea y la incapacidad de llevar un embarazo a término. Una vez que la TFG disminuye a menos de 20 ml/min/1.73 m², se presentan síntomas como anorexia, hipo, náusea, vómito y pérdida de peso que son los síntomas más tempranos de la uremia. Los pacientes presentan aliento urémico debido al desdoblamiento del amonio en la saliva, que se asocia a sabor metálico.^[7]

Los pacientes con ERC cursan con síntomas tempranos de disfunción del sistema nervioso central causados por la uremia como dificultad para concentrarse, somnolencia e insomnio. Posteriormente se presentan cambios de comportamiento, pérdida de la memoria y errores de juicio, que pueden asociarse con irritabilidad neuromuscular como hipo, calambres y fasciculaciones. En el estado urémico terminal es común observar asterixis, clonus y corea, así como estupor, convulsiones y finalmente coma. La neuropatía periférica ocurre con frecuencia afectando más los nervios sensitivos de las extremidades inferiores en las porciones distales. Su presencia es una indicación firme de iniciar TRR. Una de las manifestaciones más comunes es el síndrome de piernas inquietas. Si la diálisis no se instituye en cuanto aparecen las alteraciones sensitivas, progresa a anomalías motoras con pérdida de los reflejos osteomusculares, debilidad, parálisis del nervio peroneo, que se aprecia como pie caído y finalmente cuadriplegia flácida.^[1]

Algunas etiologías de la ERC, en particular la nefropatía diabética, alteran severamente los mecanismos de secreción de potasio en la nefrona, permitiendo el desarrollo de hiperkalemia. Se debe mantener un balance adecuado de potasio ya que su efecto en la función cardíaca puede ocasionar arritmias y resultar en un paro cardíaco. Por lo general no se observa hiperkalemia clínicamente significativa hasta que la TFG cae por debajo de 10 ml/min/1.73 m² o el paciente recibe una carga adicional de potasio.^[7]

Los riñones juegan un papel fundamental en la regulación del equilibrio ácido-base en el organismo. En las etapas avanzadas de la enfermedad renal es común la acidosis debido a que disminuye la capacidad de excretar hidrogeniones en forma de amonio, causando un balance positivo de ácido en el organismo. En un inicio los pacientes presentan acidosis de brecha aniónica normal, sin embargo, conforme progresa la enfermedad renal aumenta la brecha aniónica con una disminución recíproca del bicarbonato en sangre. En la mayoría de los pacientes se observa una acidosis leve, por lo general con pH superior a 7.3, sin embargo

pueden presentarse manifestaciones severas de un desequilibrio ácido-base cuando el paciente se expone a un exceso de ácido o pérdidas alcalinas, como ocurre en la diarrea. Los riñones y el hueso son importantes reguladores del metabolismo del calcio y del fósforo. Al deteriorarse la función renal, disminuye la síntesis de vitamina D, baja el nivel de calcio y aumenta el de fosfato.^[7]

La hiperfosfatemia se presenta en estadios avanzados de la insuficiencia renal, en pacientes con TFG menor a 20 ml/min/1.73m², siendo está una de las principales causas de hiperparatiroidismo en los pacientes con ERC. El exceso de fosfato disminuye la síntesis de vitamina D activa y esto a su vez resulta en una caída del nivel sérico de calcio, que es el estímulo principal para la secreción de paratohormona (PTH). En aproximadamente 35% y 90% de los pacientes con ERCT existe evidencia de alteraciones óseas a nivel radiológico e histológico, respectivamente, a pesar de que menos del 10% presentan síntomas clínicos de enfermedad ósea antes de requerir diálisis. En los pacientes con enfermedad renal crónica se observan principalmente dos tipos de trastornos óseos, que se reflejan como fragilidad: la osteítis fibrosa quística y la osteomalacia que progresa a enfermedad ósea adinámica.^[8]

Las manifestaciones dermatológicas de la uremia incluyen palidez, equimosis y hematomas, mucosas deshidratadas, prurito y excoriaciones. Comúnmente se observa una coloración amarillenta resultado de la anemia y la retención de pigmentos metabólicos. Algunos pacientes presentan una coloración grisácea a broncínea debido a la acumulación de hierro secundaria a repetidas transfusiones, aunque se ve menos con la administración de eritropoyetina. En estados avanzados, la cantidad de urea presente en el sudor es tan alta que se precipita en forma de un fino polvo blanquecino conocido como escarcha urémica.^[9]

En la ERC hay una pérdida gradual de la función renal de modo que en las etapas tempranas con frecuencia los pacientes están asintomáticos y puede no detectarse la enfermedad hasta que el daño renal es muy severo. La enfermedad renal puede diagnosticarse directamente al observar alteraciones histológicas en la biopsia, o bien indirectamente por albuminuria o proteinuria, anormalidades del sedimento urinario o datos característicos en las pruebas de imagen. Debido a que la TFG disminuye con la edad, la prevalencia de la enfermedad renal crónica aumenta con la ella y se estima que aproximadamente el 17% de las personas mayores de 60 años tienen una TFG menor a $60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$.^[7]

1.4 Evaluación de la Enfermedad Renal Crónica

La proteinuria es un marcador de la progresión de la enfermedad renal. Un individuo sano normalmente excreta una cantidad de proteínas mínima en orina $< 150\text{ mg}$ al día. La proteinuria es detectable mediante las tiras reactivas cuando es mayor o igual a $300\text{mg}/\text{L}$ o 300 mg de albúmina/g creatinina, lo que se conoce como microalbuminuria. Tanto la micro como macroalbuminuria son marcadores de riesgo de progresión de la enfermedad renal, especialmente en diabéticos, también se ha asociado con mayor prevalencia de muerte por enfermedad cardiovascular.^[7]

La ERC se divide en cinco estadios según la TFG y la evidencia de daño renal. El estadio 1 se caracteriza por la presencia de daño renal con TFG normal o aumentada, es decir $90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ o superior. Por lo general la enfermedad es asintomática. Las guías de la National Kidney Foundation clasifican a los pacientes que tienen diabetes y microalbuminuria con una TFG normal en el estadio 1. El estadio 2 se establece por la presencia de daño renal asociada con una ligera disminución de la TFG entre 89 y $60\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$. Usualmente el paciente no presenta síntomas y el diagnóstico se realiza de manera incidental. El estadio 3 es una disminución moderada de la TFG entre 30 y $59\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$. Se

ha dividido el estadio 3 en dos etapas. La etapa temprana 3a, pacientes con TFG entre 59 y 45 ml/min/1.73m² y la etapa tardía 3b con TFG entre 44 y 30 ml/min/1.73m². Al disminuir la función renal, se acumulan en el torrente sanguíneo sustancias producto del metabolismo que ocasionan uremia. Los pacientes comúnmente presentan síntomas y complicaciones típicas como hipertensión, anemia y alteraciones del metabolismo óseo. Algunos de los síntomas incluyen fatiga relacionada con la anemia, edema por retención de agua corporal, dificultad para conciliar el sueño debido a prurito y calambres musculares, cambios en la frecuencia urinaria, espuma cuando hay proteinuria y coloración oscura que refleja hematuria. Se aumentan los riesgos de enfermedad cardiovascular. El estadio 4 se refiere a daño renal avanzado con una disminución grave de la TFG entre 15 y 30 ml/min/1.73m². Los pacientes tienen un alto riesgo de progresión al estadio 5 y de complicaciones cardiovasculares. A los síntomas iniciales del estadio anterior se agregan náusea, sabor metálico, aliento urémico, anorexia, dificultad para concentrarse y alteraciones nerviosas como entumecimiento u hormigueo de las extremidades.

El estadio 5 o insuficiencia renal crónica terminal, la TFG cae por debajo de 15 ml/min/1.73m². En este estadio se requiere de tratamiento sustitutivo.^[2]

Uno de los objetivos de tratamiento en los pacientes con ERC es evitar la progresión y en los casos iniciales minimizar la proteinuria, las estrategias que se han implementado son variadas pero entre los fármacos que han mostrado más beneficio están los que bloquean el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) que además de tener efecto antihipertensivo, son eficientes en disminuir la proteinuria [referencia], por ello es importante describirlo.

1.6 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

El angiotensinógeno es una alfa 2 globulina de 789 aminoácidos que pertenece a la familia de las serpinas, se produce en hígado.^[11]

La renina es una enzima que se origina en la mácula densa del aparato yuxtaglomerular, se almacena en gránulos lo que permite su liberación inmediata, se encarga de fragmentar el angiotensinógeno para dar origen a angiotensina I, un decapeptido con mínimo efecto vasoconstrictor que sufre un nuevo corte proteolítico por la enzima convertidora de angiotensina producida por endotelio vascular y en circulación pulmonar, se genera entonces la angiotensina II (Ang II), un octapeptido con gran poder vasoconstrictor que también es capaz de estimular la liberación de aldosterona a partir de la zona glomerular de la corteza suprarrenal, la cual permite la reabsorción de sodio y agua a nivel de túbulo contorneado distal en menor medida lo hace en túbulo colector.^[12]

El efecto final de la activación del sistema es incrementar el volumen sanguíneo circulante, el tono vascular y por ello elevar la presión arterial. En ocasiones los mecanismos sensores no son tan precisos y se presenta la activación persistente que conduce a estados de hipervolemia y edema.

Se ha descrito la producción local de todos los integrantes del sistema en órganos como corazón, riñón, cerebro y tejido adiposo cuyas implicaciones no se han precisado del todo pero en definitiva no participan de forma importante en el control de la presión arterial.^[12,13]

A continuación se presentan las características más destacadas de los principales componentes del sistema.

1.6 Angiotensina II y otros tipos de Angiotensina

La Ang II es un octapeptido producido por cortes proteolíticos a partir de angiotensinógeno. Cuando se presenta el corte de otro aminoácido por la ECA se origina el heptapeptido vasodilatador Ang 1-7, por ello es indispensable un balance entre la ECA y ECA2 para regular los niveles de Ang II cuya concentración sérica es relativamente baja de 10 a 50 pmol.^[14]

Quimasa es una enzima que también controla los niveles de Ang II. Su producción se debe a células endoteliales, mesenquimales de corazón, en riñón es por células mesangiales y por musculares lisas vasculares. Es relevante debido a que constituye una forma alterna, independiente a la ECA para la generación de Ang II que se observa principalmente en estados patológicos.^[15]

Existen aminopéptidasas en circulación responsables de realizar cortes proteolíticos a Ang II para generar Ang III (ANG 2-8) y Ang IV (Ang 3-8), Ang III tiene efectos parecidos a Ang II pero de menor potencia que incluyen los de amplificación de la respuesta inflamatoria, fibrótica y proliferativa. Ang IV al contrario favorece un papel protector a través de la vasodilatación en la circulación renal y cerebral.^[16]

Los efectos de Ang II varían de forma sustancial en función del tipo de receptor con el cual actúe, incluso llegan a ser opuestos. La localización es en la membrana celular en el caso del receptor de angiotensina tipo 1 (AT1) y receptor de Angiotensina tipo 2 (AT2) que se encuentran acoplados a proteínas G, por otro lado existen receptores en membrana nuclear (eje Ang 1-7/ Mas-1) que son capaces de antagonizar al AT1.^[17]

1.7 Receptor AT1

La mayoría de los efectos biológicos de Ang II son mediados por el receptor tipo I que se localiza en órganos como riñones, cerebro, vasos sanguíneos, hígado, glándulas suprarrenales y pulmones. Está constituido por 359 aminoácidos, su gen se encuentra en el locus 3q21-q25.^[18]

Presenta un dominio extracelular caracterizado por tres sitios de glucosilación. La interacción con la proteína G ocurre en el dominio transmembranal en el extremo amino terminal y en la primera de las tres asas extracelulares. Existen cuatro residuos de cisteína que forman puentes disulfuro esenciales para la unión de Ang

II. La cola citoplasmática del receptor contiene muchos residuos de serina/treonina que son fosforilados por las cinasas del receptor de proteína G (GRK) que median la transducción por sistemas efectores de membrana en los que participan fosfolipasa C, fosfolipasa D, fosfolipasa A2, canales de calcio sensibles a voltaje y canales iónicos. Modificaciones en estas vías de señalización pueden ser responsables de alteraciones de la función del receptor.^[19]

El receptor se puede presentar en forma de homo-oligomerización o hetero-oligomerización, por ejemplo con: Receptores B2 de bradicinina, receptores dopaminérgicos D2 y receptores β 2 adrenérgicos. La homodimerización ocurre de forma constitutiva. El receptor B2 de bradicinina potencializa la señalización del AT1.^[14]

Ang II de forma inicial propicia sobreexpresión de receptor AT1 en membrana plasmática, pero de manera crónica la minimiza. El control del receptor AT1 puede establecer un vínculo entre hipertensión y varios desórdenes como hiperlipidemia e hiperinsulinemia.^[20]

Los receptores estimulados en la superficie celular son internalizados después de 10 minutos y el 25% son reciclados a la membrana plasmática. Varias proteínas se han implicado en el reciclaje endocítico, entre ellas están: Fosfolipasa D2 mediadora de proteína G, β -arrestina y la familia Rab de GTPasas.^[21]

Evidencia reciente ha mostrado la internalización por medio de caveolas de forma independiente a vesículas. La interacción con Cav-1 es necesaria para la activación de Rac 1 lo cual induce la señalización por vía de Ang II dependiente de Nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y finalmente conduce a la hipertrofia de células musculares lisas del endotelio vascular.^[22]

El polimorfismo en el gen AT1 que se ha asociado con incremento de factores de riesgo cardiovascular de forma más consistente es A1166C relacionado con

hipertensión, incremento de grosor de la aorta e infarto agudo al miocardio debido a que favorece mayor efecto vasoconstrictor de Ang II aparentemente por una activación sostenida de canales de calcio dependientes de voltaje.^[15]

Las vías de señalización que se pueden activar por la estimulación del receptor AT1 son variadas y a continuación se describen algunas de ellas.

1.8 Mecanismos de señalización clásicos mediados por proteína G

Por medio del acoplamiento a Gq/11 y G12/13 en el primer caso activa al mecanismo transductor de inositol fosfato/calcio y en el segundo activa fosfolipasa C y D, canales de calcio y cinasa Rho se produce así la respuesta de AMPc.^[14]

Se presentan también respuestas secundarias a causa de la estimulación de factores de crecimiento, principalmente se deben a la acción de tirosina cinasas como Pyk2, c-Src, Tyk2, FAK, Jak2. La fosforilación de tirosinas de receptores y de proteínas de andamiaje es importante para la organización de vías de señalización; por ejemplo la activación del factor de crecimiento epidérmico (EGF) que se induce por la proteína cinasa activadora de mitógenos (MAPK cinasa 1) y cinasas extracelulares reguladoras de señal (ERK) o la regulación de la migración de las células musculares lisas vasculares debida a ERK 1/2.^[23]

Ang II es un estímulo potente para células musculares lisas y formación de matriz extracelular en el endotelio vascular debido a la vía del factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF). También participan las vías de fosfatidil inositol 3 cinasa, el objetivo de rapamicina en mamíferos (mTOR) y Akt.^[24]

En piel Ang II estimula la curación de heridas por crecimiento de queratinocitos y miofibroblastos. En células de la capa glomerular de corteza suprarrenal además de favorecer producción de aldosterona, funciona como factor trófico por medio

de la vía de calcineurina o MAPK cinasas, las cuales también son el mecanismo de activación de factores de crecimiento como el derivado de plaquetas (PDGF) y receptores de factor de crecimiento insulínico (IGF) .^[25]

La transactivación de EGFR y otros receptores de factores de crecimiento se realiza por medio de MAPK y con participación de calcio, Src y PKC, lo cual causa la liberación de EGF-unido a heparina de su precursor de la membrana y la activación de EGFR.^[25]

1.9 Efectos de Ang II independientes de proteína G

El receptor AT1 se asocia a moléculas como β arrestinas y tirosina cinasas, las primeras participan en la endocitosis mediada por clatrina y también funcionan como proteínas de andamiaje que organizan complejos de señalización para la activación de MAPK, ERK, JNK3 y SMAD 2/3. Sin embargo la señalización por MAPK debida a β arrestinas es incapaz de estimular la síntesis de DNA y tampoco la división celular pero puede promover la reorganización del citoesqueleto de actina y la quimiotaxis; de esta manera contribuye a la migración de las células cancerosas.^[14]

Las mutaciones en aminoácidos específicos como Asp125, Arg126 y Tyr127 en el AT1R propician que el receptor se encuentre desacoplado a proteína G pero es capaz de activar tirosina cinasas Src y puede causar la activación ERK 1/2 pero falla al fosforilar objetivos nucleares. Otras mutaciones en el receptor pueden inducir la activación de JNK mediada por Cdc-42.^[26]

1.9 Activación de la vía janus cinasa (JAK)/ Transductor de Señal y Activador de Transcripción (STAT)

Esta vía se ha vinculado con varios de los efectos patológicos de Ang II: Fibrosis túbulo-intersticial, hipertrofia miocárdica, falla cardíaca, crecimiento de células

musculares lisas e inflamación vascular. También es responsable de sobreregular angiotensinógeno y en consecuencia mayor producción de Ang II.^[27]

La activación de AT1R estimula la liberación de IL-6 y otras citocinas que permiten la señalización de JAK/STAT y se ha documentado la participación de Ang II para señalar por vía STAT 1-3, 5 y 6.^[28]

1.10 Efectos de Ang II a nivel renal

Las concentraciones renales de Ang II son casi mil veces superiores respecto a la circulación general. Tiene un papel crítico en la regulación de la tasa de filtración glomerular y en estados patológicos, en el desarrollo de glomeruloesclerosis por incremento de la presión capilar glomerular debido a constricción preferencial de arteriolas eferentes. En forma independiente a los efectos hemodinámicos tiene acciones sobre las células mesangiales en las que provoca hipertrofia y proliferación por producción de anión superóxido a través de la cascada de ERK.^[27]

La Ang II cuando señala por medio de Smad 2/3 permite la expresión de TGF- β y de INK que inducen mayor producción de componentes de matriz extracelular como colágeno I, biglicano y fibronectina. Aún en ausencia de SMAD 2/3, existe sobreproducción de TGF- β y en este caso vía de señalización involucra PKC, también se ha propuesto el factor de transcripción AP-1.

Una citocina profibrótica, el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), es un nuevo participante cuyos niveles se incrementan en presencia de TGF- β y sus efectos permiten mayor glomeruloesclerosis y atrofia túbulo-intersticial.^[29]

La Ang II también actúa en las células mesangiales al permitir la translocación de NF- κ B a núcleo y favorecer respuesta inflamatoria con sobre-expresión de ligando de quimiocina CC 2 (CCL2) proteína quimioatrayante de monocitos 1 (MCP-1), IL-6 y moléculas de adhesión.^[20]

A nivel de células endoteliales y epiteliales hay mayor liberación de RANTES/CCL5 también del filamento intermedio desmina lo que hace patente cambios fenotípicos cuyo significado es aún incierto. En los túbulos se encuentra mayor expresión de osteopontina (OPN), molécula quimiotáctica para macrófagos, aunado a la presencia de CCL2 y CCL5 se favorece el infiltrado inflamatorio. En células musculares endoteliales permite la regulación positiva de TLR-4.^[30]

Los podocitos también sufren efectos de Ang II como apoptosis por la activación de AT1R, proceso mediado por especies reactivas de oxígeno y que requiere la transcripción de genes activados por el factor de activación nuclear de células T (NFAT) como ciclooxigenasa 2 y prostaglandina E. Los podocitos tienen un fenotipo que les confiere características contráctiles que influyen sobre la dinámica y permeabilidad glomerular, esta capacidad es potenciada por Ang II, si ocurre de forma persistente puede llevar a que de ser células dinámicamente estables se transformen a adaptativamente migratorias.^[31]

Las consecuencias de la estimulación por Ang II en los diferentes tipos celulares renales conducen al establecimiento de lesión túbulo-intersticial con atrofia y dilatación tubular, infiltración de monocitos, fibrosis intersticial y acumulación de colágeno tipo IV lo que conduce finalmente a disminuir la tasa de filtración glomerular.^[32] [32].

1.11 Otros efectos de la Angiotensina II

En macrófagos la Ang II permite mayor producción de quimiocinas principalmente CCR2 y CCL2. En células dendríticas participa en su maduración lo que implica mayor captura de antígenos y favorece su presentación, simultáneamente propicia migración. Los efectos sobre células T son de activación, proliferación y liberación de quimiocinas y citocinas.^[16]

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona permite limitar los efectos proinflamatorios de la Ang II especialmente sobre células presentadoras de antígenos y linfocitos T, lo que constituye un mecanismo adicional a la regulación hemodinámica de la microvasculatura renal para el control de la hipertensión arterial.^[32]

1.12 Enzima Convertidora de Angiotensina

La ACE es una dipeptidil-carboxipeptidasa I/cininas II de la cual hay dos formas distintas, una forma somática que se expresa abundantemente en los vasos pulmonares y en el endotelio activado (mayor presencia de moléculas de adhesión y factores quimiotácticos); la otra es la germinal que se produce y se localiza exclusivamente en testículos. Ambas formas son ectoenzimas pero se pueden hidrolizar hacia la circulación por efecto de la secretasa de ACE y eso determina sus niveles séricos. Tiene dos sitios activos (dominios C y N) y la conversión de Ang I tiene lugar principalmente en el dominio C.^[33]

Es responsable de la escisión del péptido His-Leu del extremo carboxilo de la angiotensina I para generar angiotensina II, pero la afinidad por el sustrato permite que pueda degradar otros péptidos pequeños como encefalinas, sustancia P,^[34] también degrada bradiginina caracterizada por ser poderoso vasodilatador.^[32] Uno de los efectos adversos del empleo de los bloqueadores de la ACE es anemia por incremento de N-acetil-seril-lisil-prolina, que es un inhibidor natural de la proliferación de células troncales hematopoyéticas, tiene efectos angiogénicos e inhibe la producción de colágeno por fibroblastos.^[35]

Existe evidencia que vincula el depósito cerebral de proteína β amiloide con ACE, puesto que niveles elevados de esta enzima se han encontrado en la corteza temporal de pacientes con enfermedad de Alzheimer. En estos casos hay expresión de ACE y Ang I en vasos sanguíneos lo que sugiere un papel en neurodegeneración.^[36]

La transducción de señales de ACE se debe a que la cola citoplasmática es corta, tiene entre cuatro y cinco residuos de serina uno de los cuales, Ser12,^[37] es fosforilado por la cinasa de caseína 2 (CK2), esta fosforilación basal estabiliza su localización en la membrana plasmática, principalmente en el caso de células endoteliales.^[33]

CK2 no es la única que se encuentra asociada a la cola citoplasmática de ECA, también lo están la proteína cinasa activadora de mitógenos cinasa 7 y la cinasa c-Jun N-terminal (JNK). El incremento en la actividad de JNK permite la translocación de C-Jun fosforilado al núcleo donde potencia al factor activador de transcripción proteico, así se produce la sobreexpresión de genes como ACE y ciclo oxigenasa 2 (COX 2).^[33]

1.13 Gen ACE

Se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 específicamente en el locus 17q23 es de 21 Kilo bases de longitud y comprende 26 exones y 25 intrones. Se han descrito más de 160 polimorfismos, la mayoría son de un solo nucleótido y sólo 34 se encuentran en regiones codificantes de los cuales 18 son mutaciones sin sentido. La ACE somática es transcrita de un promotor localizado en la región 5' del primer exón y conduce a la transcripción de todos los exones. En 1990 se identificó un polimorfismo que involucra la presencia (I) o ausencia (D) de 287 pb de DNA en el intrón 16 del gen. Se precisó que la actividad en promedio de la ECA para los portadores del genotipo DD era dos veces mayor que los homocigotos II [38]. Este polimorfismo es una secuencia Alu, que se caracterizan por encontrarse ampliamente repetidas en el genoma, constituyen hasta el 10%, sin embargo su significado biológico no se ha logrado aclarar, en este caso corresponde al siguiente orden de nucleótidos: AGCT.^[39]

La efectividad clínica de los inhibidores de la ACE en cuanto a reducción de proteinuria, control de presión arterial y cardioprotección que consiste en evitar el

remodelamiento miocárdico dependen en gran medida de los niveles y actividad de ECA por ello el polimorfismo I/D es el primordial determinante de su eficiencia, así que este polimorfismo se ha investigado en varias condiciones patológicas, sin embargo no en todos los casos la asociación ha sido contundente a pesar del sustento fisiopatológico. [40] En el Tabla 1 se presentan estudios destacados realizados principalmente bajo perspectiva cardiovascular.

Tabla 1. Estudios en los que se investiga la asociación del polimorfismo I/D con enfermedades.

Autor	Estudio
Jeunemaitre 1992	No asociación de ACE con hipertensión esencial
Schmidt 1993	No asociación de I/D con estado de presión arterial
Agachan B. 1999	Asociación entre alelo D y cifras elevadas de presión arterial
Kairo K. 1999 Giner V. 2000 Staessen 1997	Incremento de 10% de riesgo de hipertensión del genotipo DD
Meta-análisis	Asociación del alelo D con nefropatía diabética
Agreholm-Larsen	La presión arterial no fue influenciada por el genotipo de ACE
2000. Meta-análisis	Mayor frecuencia de IAM en genotipo DD
Agarwal 2005	12 estudios mostraron asociación entre ACE e hipertensión y 14 no
Sayed-Tabatabaei 2003. Meta-análisis	Asociación del alelo D con arterioesclerosis (capa media de carótida)
Ueda 1995	Después de la infusión de Ang I mayores niveles de Ang II y de presión arterial en portadores del genotipo

	DD comparados con II
Cambien 1992	Alelo D e infarto agudo al miocardio
Sharma P 1998 Maeda Y 1996	Meta-análisis que mostró asociación del alelo D y evento vascular cerebral isquémico
Boright 2005	Cohorte que corroboró mayor riesgo de nefropatía diabética en portadores de D
Huang 2001	Modelo animal de diabetes que correlacionó niveles de ECA con magnitud de proteinuria e hipertensión
Kehoe 2001	Asociación entre la presencia de alelo I con enfermedad de Alzheimer
Árias-Vázquez 2005	Mayor riesgo de mortalidad temprana (menor de 65 años) en portadores del genotipo DD
Tian-Biao Zhou 2012	Meta-análisis. El alelo D y genotipo DD son marcadores genéticos de susceptibilidad a lupus eritematoso sistémico y el genotipo DD es un marcador de riesgo para nefropatía lúpica
Topete-Reyes 2014	No se encontró asociación del polimorfismo I/D de ACE con nefropatía lúpica en población mexicana
Topete-Reyes 2014	Polimorfismo I/D de ACE en trasplante renal

Hay pocos estudios que se han realizado sobre este polimorfismo en población mexicana, pero vale la pena resaltar el realizado por Árias y cols en donde se describe su distribución en diferentes grupos étnicos y se corrobora la heterogeneidad poblacional. Cabe resaltar que se llevó a cabo en personas clínicamente sanas y los resultados se muestran en el Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de alelos y genotipos del polimorfismo I/D de ACE en diferentes grupos étnicos de México.

	Mestizos	Nahuas	Huastecos
Alelos			
I	0.602	0.781	0.612
D	0.398	0.219	0.388
Genotipos			
II	0.399	0.563	0.244
ID	0.408	0.437	0.734
DD	0.193	0.000	0.012

El análisis de asociación del polimorfismo I/D de ACE con diferentes enfermedades ha mostrado resultados poco consistentes, sin embargo dado los significativos efectos proinflamatorios de Angiotensina II y ante la eficiencia de los bloqueadores del sistema Renina Angiotensina Aldosterona para evitar la progresión de la enfermedad renal crónica, se ha propuesto que este polimorfismo puede ser determinante en la evolución de esta entidad independientemente de la etiología. En el Cuadro 3 se presentan estudios que han investigado esta asociación.

Tabla 3. Asociación del polimorfismo I/D de ACE con ERCT.

Autor	Población	Conclusión
VAN DER SMAN-DE BEER F (45)	Caucásicos. 453 Pacientes en Diálisis I/I 24.3% (N=110) I/D 50.1% (N=227) D/D 25.6% (N=116)	El genotipo D/D se asocia con incremento del riesgo de mortalidad en pacientes con Diálisis
YU ZY (46)	Metaanálisis. 20 estudios de pacientes con Nefropatía Diabética y riesgo de ERCT ALELO D: RM=1.32, 95% (IC:1.11-1.56) GENOTIPO DD RM=1.67, 95% (IC: 1.25-2.21)	El alelo D y genotipo D/D se asocia con susceptibilidad para ERCT en pacientes con Nefropatía Diabética
CHANG HR (47)	Asiáticos. 129 Pacientes con Diabetes y 116 personas sanas	No hubo diferencias significativas entre los dos grupos
BURACZYNSKA M (48)	Caucásicos. 745 Pacientes con Diálisis (745): I/I 171 (23%), I/D 346 (46.4%), D/D 228 (30.6%) Controles (520): I/I 112 (21.5%), I/D 268 (51.5%), D/D 140 (27%)	No se observaron diferencias significativas
ZSOM M (49)	Caucásicos Pacientes con ERCT(245): I/I 48, I/D 114, D/D 82 Controles (200) I/I 44, I/D 110, D/D 46	En el grupo de ERCT debida a Glomerulonefritis la frecuencia del genotipo D/D, fue mayor que en controles
TRIPATHI G (50)	Asiática ERCT (184): I/I 54 (29.3%), I/D 74 (40.22%), D/D 56 (30.43%) Controles(569): I/I 379 (66.6%), I/D 148 (26%), D/D 42 (7.4%)	El genotipo D/D puede ser un marcador genético que predice inicio y progresión de la falla renal crónica en personas del Norte de la India

<p>PEREIRA TV (51)</p>	<p>Metanálisis.8 estudios con 1420 individuos</p> <p>ERCT y enfermedad poliquística renal autonómica dominante (398)</p> <p>Enfermedad poliquística renal autonómica dominante(1022)</p>	<p>La evidencia actual sostiene la hipótesis de que el POLIMORFISMO I/D de ACE juega un papel principal en el riesgo de ERCT o hipertensión en pacientes con enfermedad poliquística renal autonómica dominante</p>
<p>LAU Y (52)</p>	<p>Asiáticos 118 Pacientes con Nefropatía por IgA</p> <p>IgA I/153 (45%), I/D 48 (41%), D/D 17 (14%);</p> <p>IgA con ERCT I/116 (50%), I/D 10 (31%), D/D 6 (19%)</p> <p>Controles (94): I/I 47 (50%), I/D 43 (46%), D/D 4 (4%)</p>	<p>El genotipo D/D se asocia a Nefropatía por IgA pero no es pronóstico para ERCT</p>

1.13 Marco normativo

- Ley General de Salud. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última reforma publicada DOF 15-01-2014.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA3-2010 Para la práctica de la hemodiálisis.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification.
- Kidney Disease Improving Global Outcomes.
- The National Kidney Foundation Kidney Disease outcomes Quality Initiative

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Justificación y Planteamiento del problema

Al igual que otros países, México está inmerso en un proceso de transición epidemiológica a través del cual ciertas enfermedades crónico degenerativas como la DM y la HAS, las cuales han desplazado a las enfermedades infecciosas de las principales causas de muerte. La ERC es una complicación frecuente de las dos enfermedades previamente mencionadas. Cuando la ERC alcanza un estado terminal y no es tratada de manera efectiva, conduce a la muerte en poco tiempo debido a su naturaleza discapacitante y progresiva. Como resultado del incremento constante en su incidencia durante las últimas décadas, la DM y la HAS han alcanzado proporciones epidémicas. Los datos de la ENSANUT 2000 muestran que la prevalencia de diabetes es del 7.2%, lo cual equivale a más de 7 millones de mexicanos afectados (principalmente adultos mayores de 60 años); y la ENSANUT 2006 revela que la prevalencia de HAS es de 16.3%. De acuerdo a la división empleada por la ENSANUT 2006, se evidenció que algunos de los estados de la zona centro (Colima, Jalisco, Aguascalientes y Guanajuato) y centro occidental (Distrito Federal, Estado de México y Morelos) tenían el mayor riesgo de mortalidad secundaria a enfermedad renal al interior de la República Mexicana. Las zonas norte y sur presentaron menores riesgos de mortalidad para este evento, demostrando que existen diferencias regionales y estatales a lo largo y ancho del país. Mientras que en la ENSANUT 2012 la prevalencia de pacientes diabéticos en México aumento al 9.2%.^[42]

Se estima en México una incidencia de pacientes con ERCT de 377 casos por millón de habitantes; sin embargo, esta cifra pudiera ser incierta por los cientos de casos de pacientes que ni siquiera saben que tienen DM ni mucho menos una posible falla en el riñón.

El problema de la ERCT ya posee dimensiones alarmantes y las proyecciones elaboradas por la UNAM apuntan a que el número de casos de ERC continuará en aumento: si las condiciones actuales persisten, para el año 2025 habrá cerca de 212 mil casos y se registrarán casi 160 mil muertes relacionadas a dicha enfermedad.^[43]

Se estima que en nuestro país existen hoy más de 129 mil pacientes con ERC que requieren, sin alternativa inmediata, de un tratamiento sustitutivo, en cualquiera de sus tres modalidades (hemodiálisis, diálisis peritoneal y trasplante renal) para mantenerse con vida.^[44]

En 2005, las estadísticas de mortalidad mostraron que la ERC fue, por sí misma, la décima causa de muerte a nivel nacional, dando origen a más de 10 mil muertes. Alrededor de 60 mil personas más mueren cada año por esta enfermedad aunque otra condición sea registrada como la principal causa de muerte.

Los pacientes con ERC tienen un mayor riesgo de morir y padecer enfermedades cardiovasculares que la población general. En el año 2006, se publicó un metaanálisis que mostró un aumento del riesgo relativo de mortalidad cardiovascular a ERCT, que fue mayor en cohortes con pacientes más jóvenes. Calcularon que en pacientes con un promedio de 50 años de edad, el riesgo relativo es de 3.4 (IC 95% 2.1-5.5); mientras que en pacientes con una media de 70 años en riesgo relativo es de 1.5 (IC 95% 0.96-2.3). En conclusión, hay evidencia de que la insuficiencia renal crónica incrementa el riesgo de muerte por cualquier causa y específicamente por eventos cardiovasculares de manera significativa.

Así mismo, el riesgo de hospitalización por cualquier causa y padecer eventos cardiovasculares se incrementa progresivamente conforme se agrava el deterioro de la función renal. Un estudio publicado en 2004 mostró que a partir del estadio 2, conforme disminuye la TFG de 60ml/min/1.73m² el riesgo de muerte se incrementa progresivamente. En pacientes en estadio 3 con TFG de 45 a 59

ml/min/1.73m², el riesgo de muerte es 1.2 veces mayor, sin embargo, aun en esta etapa, cuando la TFG es 30 a 44 ml/min/1.73m² el riesgo de muerte es 1.8 veces mayor. En el estadio 4, los pacientes con una TFG estimada de 15 a 29 ml/min/1.73m² tienen un riesgo 3.2 veces mayor y 5.9 veces mayor con una TFG estimada menor a 15 ml/min/1.73m² en el estadio 5. Es notorio el incremento exponencial en la mortalidad conforme disminuye la función renal. Dentro de la evolución de la ERCT, en el estadio 3 se reconoce un componente temprano (3a) con TFG de 59 a 45 ml/min/1.73m² y un componente tardío (3b) con TFG de 30 a 44 ml/min/1.73m².^[2] La importancia de esta división radica en que los problemas son distintos en estas dos etapas y por lo tanto las prioridades cambian.

El riesgo de muerte asociado con ERC es mayor en jóvenes o en personas con una menor prevalencia de enfermedad cardiovascular. El riesgo relativo de mortalidad cardiovascular en pacientes en diálisis comparados con la población general es mayor en pacientes más jóvenes. Por lo tanto las estrategias preventivas y de diagnóstico temprano debe dirigirse a estas poblaciones.^[43,44]

La ERCT con frecuencia coexiste con otros factores de riesgo cardiovascular, como dislipidemia, hipertensión, tabaquismo, diabetes, que se sabe aumentan el riesgo de mortalidad en la población general.^[42]

El daño renal puede ser un marcador de severidad de enfermedad vascular, incluyendo aterosclerosis que no es clínicamente evidente. La disfunción renal se asocia con marcadores de inflamación y otros factores de riesgo para enfermedad cardiovascular. Las estrategias terapéuticas que han sido útiles en prevenir eventos cardiovasculares en pacientes con ERCT incluyen un control riguroso de la presión arterial, estatinas, IECA's y antagonistas de los receptores de angiotensina.^[43]

La ERC es la resultante de diversas enfermedades crónico degenerativas, entre las que destacan la DM, la HAS y glomerulopatías. Con una elevada prevalencia a nivel mundial, especialmente en países de Latinoamérica donde de acuerdo a

estimaciones realizadas en 2008 había aproximadamente 50 millones de afectados y conduce hacia un desenlace fatal si no es tratada. Las cifras de morbilidad y mortalidad son alarmantes; en México, esta es una de las principales causas de atención en hospitalización y en los servicios de urgencias y medicina interna. El gasto médico total derivado de la atención de la ERC, considerando los supuestos del escenario base, se estimó en 4.013 millones de pesos para el año 2007.

La ERCT representa una de las enfermedades más costosas a nivel mundial. Los costos globales de su tratamiento son muy altos y continúan aumentando, constituyendo un reto económico para los sistemas de salud. Existen factores económicos importantes que influyen en la selección de la modalidad de diálisis, especialmente el financiamiento, el reembolso por el servicio y la disponibilidad de recursos.

El incremento del número de pacientes en programas sustitutos sigue una curva lenta y progresiva, lo cual es preocupante ya que en poco tiempo no habrá recursos financieros suficientes para sustentar estas terapias. La Secretaría de Salud en México, el INEGI y el Censo Nacional de población en 2006 reportaron la nefritis y la nefrosis en el octavo lugar como causa de defunción, mientras que la Organización Mundial de la Salud en el año 2001 la ubicó en el noveno lugar en Latinoamérica y en el mundo.

La ERC es una condición de alta prevalencia, que favorece elevada mortalidad por causa cardiovascular principalmente, en especial en el estadio V que implica una tasa de filtración glomerular menor de $15 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, en esta etapa de la enfermedad se requiere de tratamiento de sustitución y las alternativas son diálisis peritoneal y hemodiálisis. Existen factores que tienen influencia sobre los resultados de ambos procedimientos, en este sentido los que favorecen un estado inflamatorio persistente predisponen a desenlaces negativos. Por ello se ha propuesto que algunos polimorfismos en citocinas, factores de crecimiento o

quimiocinas pueden ser importantes en perpetuar el estado inflamatorio, en particular se ha señalado que el polimorfismo Inserción/Delección de ACE, es relevante, pues el alelo de la delección ha mostrado que propicia en Angiotensina II los niveles séricos más elevados y la mayor actividad de la molécula, la cual es pleiotrópica y sobrerregula IL-6, TNF α , NF-kB, CCL-5, TGF β , todas en conjunto promueven inflamación en primer instancia y finalmente fibrosis. Se sugiere que los individuos con el alelo de la delección, que ya padecen insuficiencia renal crónica y se encuentran en tratamiento sustitutivo mediante hemodiálisis tienen mayor riesgo de presentar eventos cardiovasculares y podrían tener mayor beneficio del bloqueo del SRAA en comparación a los heterocigotos o a los homocigotos para la inserción por ello se considera conveniente determinar el genotipo en este grupo de pacientes.

La regulación de la actividad de Ang II depende de la ECA, que su vez tiene como su principal determinante la regulación génica, en particular el polimorfismo Inserción/Delección (I/D gen ACE) de una secuencia repetitiva Alu de 297 pares de bases (PB) localizado en el intrón 16. Los individuos homocigotos para la inserción tienen los menores niveles y actividad de ECA, consecuentemente de Ang II mientras que los homocigotos para la delección presentan los más elevados; los heterocigotos tienen niveles intermedios. Se han realizado estudios para analizar la asociación del polimorfismo I/D de ACE con rechazo agudo y nefropatía crónica del injerto pero se efectuaron en poblaciones poco semejantes a la de México.

Este estudio es factible de realizar ya que se cuenta con los pacientes, además de contar con un laboratorio de Biología Molecular en las instalaciones del Centro de Investigación de Biomédica de Occidente (CIBO) para procesar las muestras.

2.2 Pregunta de investigación

¿Cuál es la asociación entre el polimorfismo Inserción/Delección del gen de la ACE y la enfermedad renal crónica terminal?

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis alterna (Ha)

El alelo del polimorfismo Inserción/Delección del gen ACE se asocia con progresión de enfermedad renal crónica terminal en tratamiento sustitutivo renal modalidad hemodiálisis.

2.3.2 Hipótesis Nula (Ho)

El alelo del polimorfismo Inserción/Delección del gen ACE no se asocia con progresión de enfermedad renal crónica terminal en tratamiento sustitutivo renal modalidad hemodiálisis.

2.4 Objetivos generales

- Conocer la asociación de alelos y genotipos particulares del polimorfismo I/D del gen ACE con ERCT.

2.5 Objetivos específicos

- Identificar la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo I/D del gen ACE en pacientes con enfermedad renal crónica terminal.
- Comparar la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo I/D del gen ACE entre los pacientes con enfermedad renal crónica terminal e individuos clínicamente sanos.

- Comparar la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo I/D del gen *ACE* entre los pacientes con enfermedad renal crónica terminal sin hipertensión arterial sistémica y los que si la presenten.
- Comparar la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo I/D del gen *ACE* entre los pacientes con enfermedad renal crónica terminal sin anemia y los que si la presentan.



CAPÍTULO III. MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 Tipo de estudio

- Observacional, analítico, transversal

3.2 Universo del estudio

Los pacientes incluidos están inscritos en el programa de hemodiálisis en la Unidad de Hemodiálisis del Hospital General Regional 46 IMSS.

3.3 Características Unidad Hemodiálisis HGR 46

La unidad de hemodiálisis cuenta con 27 máquinas las cuales funcionan los 7 días a la semana con los siguientes horarios 01:00, 07:00, 12:00, 16:00 y 21:00 hrs, ofertándose 918 sesiones semanales a 391 usuarios.

3.4 Población y Muestra

La población que se tomó en cuenta son las personas atendidas en la Unidad de Hemodiálisis del Hospital General Regional No. 46 del IMSS.

3.5 Variables

3.5.1 Variable independiente

- Genotipo del polimorfismo Inserción/Delección del gen ACE

3.5.2 Variables dependientes

- Enfermedad Renal Crónica Terminal

3.5.3 Variables confusoras

- Hipertensión Arterial Sistémica
- Diabetes Mellitus
- Glomerulopatía
- Tiempo de evolución con Enfermedad Renal Crónica
- Anemia
- Hiperglucemia
- Hipoalbuminemia
- Hipercolesterolemia
- Producto Calcio/Fósforo



3.6 Operacionalización de variables

Tabla 4. Operacionalización de variables.

Variable	Tipo y características	Escala de medición	Unidades	Reactivo
Genotipo	Cualitativa nominal	Homocigoto / Heterocigoto	Tipo de genotipo	Homocigoto para la inserción Homocigoto para la delección Heterocigoto
Hipertensión Arterial Sistémica	Cualitativa nominal	Presencia/ ausencia	mmHg	Con hipertensión Sin hipertensión
Diabetes Mellitus	Cualitativa nominal	Presencia/ ausencia	mg/dl	Con Diabetes Mellitus Sin Diabetes Mellitus
Glomerulopatía	Cualitativa nominal	Presencia/ ausencia		Con Glomerulopatía Sin Glomerulopatía
Anemia	Cualitativa nominal	g/dl	g/dl	Con anemia Sin anemia
Hipoalbuminemia	Cualitativa nominal	mg/dl	mg/dl	Sin hipoalbuminemia Con hipoalbuminemia
Hipercolesterolemia	Cualitativa nominal	mg/dl	mg/dl	Sin hipercolesterolemia Con hipercolesterolemia

3.6 Criterios de Inclusión

Pacientes con ERCT, inscritos en la Unidad de Hemodiálisis del Hospital General Regional 46 del IMSS

- Pacientes con ERCT
- Cualquier género
- Pacientes mayores de 16 años
- Firma de consentimiento informado

3.7 Criterios de eliminación

- Muestra insuficiente o degradada que impida la determinación del genotipo.
- Que el paciente rehúse a participar después de ser incluido.

3.8 Recolección de la información

Instrumento:

Se tomaron muestra de sangre a los pacientes inscritos en la Unidad de Hemodiálisis del HGR 46 el día que acudieron a cita programada para tratamiento sustitutivo renal.

3.9 Técnicas del laboratorio

Extracción de DNA a partir de sangre total

Se colocaron 300 μ L de sangre total recolectada en tubo con Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) en un tubo de microcentrífuga de 2.0 ml, después se agregaron 600 μ L de buffer de lisis (bromuro de dodecil trimetil amonio en trisma base 10mM pH 8.6, NaCl 1.5 M y EDTA 50 mM) se agitó suavemente por inversión a continuación se colocó 5 minutos con calor seco a 68° C posteriormente se agregaron 900 μ L de cloroformo. Se agitó vigorosamente durante 5 minutos, se procedió a centrifugar 15 minutos a 22,000 g. En este paso se formaron 3 capas la inferior que correspondió al cloroformo, una intermedia con restos celulares y la superior acuosa que contiene DNA. Se recuperó la fase acuosa y se agregaron 100 μ L de CTAB (bromuro de hexadecil trimetilamonio) y 900 μ L de agua, se agitó suavemente por inversión durante 2 minutos luego se centrifugó a 22,000 g durante 10 minutos, después se decantó el sobrenadante, se resuspendió la pastilla en 300 μ L de NaCl 1.2 M más tarde se agregó 750 μ L de etanol al 100% y se agitó moderadamente. Se precipitó el DNA, se requirió centrifugar 15 minutos a 22,000 g posteriormente se decantó el sobrenadante y se procedió a agregar 1 ml de etanol al 70%. Se agitó moderadamente y se centrifugó a 22,000 g durante 5 minutos se requirieron de 3 lavados en total, se evaporó el etanol sobrenadante colocando calor seco a 60°C durante al menos 12 horas, finalmente se resuspendió la pastilla con 300 μ L de agua inyectable.

Cuantificación de DNA

Para cuantificar la cantidad de DNA se tomaron las lecturas de la densidad óptica (DO) a 260 nm y 280 nm. La lectura a 260 nm permitió calcular la concentración de ácidos nucleicos en la muestra. Una DO de 1 corresponde a aproximadamente 50 µg/ml de DNA de doble cadena, 40µg/ml de DNA de cadena sencilla y RNA, alrededor de 20 µg/ml de DNA de cadena sencilla y RNA, y alrededor de 20 µg/ml de oligonucleótidos de cadena sencilla. La tasa entre las lecturas a 260 nm y 280 nm (DO₂₆₀/DO₂₈₀) proporcionó un estimado de la pureza del ácido nucleico. Las preparaciones puras de DNA o RNA tienen valores de DO₂₆₀/DO₂₈₀ de 1.8 y 2, respectivamente. Las muestras perfectamente homogéneas se colocaron en el espectrofotómetro (Nanodrop 2000c™) y se seleccionó el programa para ácidos nucleicos. Se ajustó con el blanco el espectro, midiendo 1 ml de agua bi-destilada y luego se colocaron 5 µL del DNA a medir, se repitió el procedimiento con cada muestra, el software reportó el valor.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Para ello se emplean los iniciadores descritos por Rigat en 1992, que tienen la secuencia: Sentido 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTCT-3' y Antisentido 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'. Se calcularon los reactivos de acuerdo al número de reacciones según las condiciones originales, se procedió a colocar 2 µL de DNA. En seguida se agregó una gota de aceite mineral para evitar la evaporación y se colocó en el termociclador TECHNE® programado con los parámetros establecidos.

Electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción con nitrato de plata

Se utilizaron geles de poliacrilamida para analizar productos amplificados. Se prepararon a partir de una solución al 30% (29 g de acrilamida y 1 g de N-N'-metileno-bisacrilamida), posteriormente se tiñeron con nitrato de plata. Esta metodología es sensible, tiene poder de resolución y da una copia permanente del experimento secando el gel, el cual se forma por la polimerización del grupo vinilo de monómeros de acrilamida, y consiste en largas cadenas de

poliacrilamida cruzados al azar de un cromonómero bifuncional, usualmente N,N-metilén-bisacrilamida (bis). La reacción produce cadenas al azar de poliacrilamida que incorporan una pequeña proporción de moléculas bis, formando una malla tridimensional por la que se mueve el DNA. La concentración de acrilamida determina el promedio de longitud de la cadena polimerizada y la concentración de bis determina la cantidad de puentes cruzados formados. La polimerización de los monómeros procede por un mecanismo de formación de radicales libres que es iniciado por un catalizador. El más empleado es el persulfato de amonio, que produce los radicales de oxígeno libre por un proceso a su vez catalizado por una base, la utilizada para acelerar esta reacción es la amina alifática terciaria N, N, N', N', tetrametietielendiamina (TEMED). Se utilizaron geles con una relación 29:1 con una concentración al 8%. Una vez realizados los geles se colocaron en una cámara de electroforesis, se cargaron los carriles previamente formados, con la mezcla del DNA amplificado y azul de bromofenol. Se utilizó el primer carril o el último para colocar el marcador de peso molecular. Se aplicó un voltaje inicial de 80 V por 30 minutos, continuando con un voltaje de 180 V durante 2 horas más. La tinción con nitrato de plata de geles de poliacrilamida, proporcionó nitidez de los fragmentos analizados, por lo que aumentó la sensibilidad y resolución, que facilitaron la interpretación de resultados, además permitió conservar el gel por tiempo prolongado.

Se colocó el gel en solución fijadora (EtOH 10%) durante 5 minutos en agitación, después se decantó el líquido. Se agregó solución de AgNO₃ al 5% y se agitó durante 5 minutos. Nuevamente se decantó el líquido y se lavó con agua destilada. Se decantó el líquido finalmente se agregó solución reveladora (NaOH 5% y formaldehído 1%) hasta que aparecieron las bandas.

3.10 Proceso de información

La información obtenida en el presente estudio se vació en hoja de cálculo del programa Excel 2010, para su análisis estadístico mediante el paquete *IBM SPSS Statistics Versión 20* para la obtención de resultados, y poder generar conclusión y discusión.

3.11 Recursos para el estudio

Recursos humanos:

- Director de tesis
- Asesores de tesis
- Técnicos de laboratorio
- Pacientes involucrados en el estudio de investigación

Recursos materiales:

- Guantes, jeringas, torundas, torniquete, tubos de recolección de sangre.
- Computadora, se utilizó para guardar datos y tener información respaldada.
- USB memoria para el almacenamiento de nuestro trabajo de investigación.
- Plumas, papel, lápiz, marcadores.

Recursos institucionales:

- Unidad de Especialidades Médicas
- Hospital General Tercer Milenio
- Laboratorio de Biología Molecular

Recursos financieros:

- Proporcionados por el investigador.

3.12 Análisis estadístico

Posterior a su análisis de variable mediante la prueba de Kolmogorov Smirnow (prueba no paramétrica) se seleccionarán las variables con distribución normal. Se realizó estadística descriptiva: utilizando para variables cuantitativas medidas de tendencia central y dispersión (medía, mediana y desviación estándar) y para variables cualitativas frecuencias y porcentajes.

De igual forma se realizó estadística inferencial o analítica: para variables cuantitativas se utiliza prueba de T de Student y sus derivaciones, para variables cualitativas prueba de χ^2 y sus derivaciones.

3.13 Consideraciones éticas

El protocolo se presentó ante el comité de bioética e investigación del Instituto de los Servicios de Salud del estado de Aguascalientes, siendo aceptado con código: 2ISSEA-03/15.

Los participantes firmaron una carta de consentimiento informado. De acuerdo a la Ley General de Salud es un estudio de riesgo mínimo por lo que no se requiere ninguna medida especial de bioseguridad cumpliendo los criterios de declaración de Helsinki y Belmont.

RESULTADOS

Se incluyeron 45 pacientes en hemodiálisis que reciben sesiones en la unidad del hospital general regional 46 del IMSS, la distribución por género fue casi equitativa. Las edades variaron desde los 19 hasta los 77 años. La frecuencia de hipertensión arterial fue del 64 % de los pacientes pero no se pudo esclarecer si fue la causa de la ERC o bien se presentó como complicación de la misma. La frecuencia de diabetes mellitus fue de 12. Dentro del IMSS la primer alternativa de tratamiento sustitutivo es la diálisis peritoneal, por ello el 58 % de los pacientes tenía antecedente de haber sido tratados en esta modalidad previamente.

En cuanto a los resultados de laboratorio destaca que los niveles de hemoglobina en promedio fueron superiores a 10 g/dl, sin embargo en ocho pacientes los niveles fueron mayores a lo recomendado es decir más de 11 g/dl y en otros ocho se encontraron abajo de 10 g/dl, además no se contó con reporte de biometría hemática de menos de un mes de antigüedad en siete casos. La concentración de hierro no se obtuvo en 10 enfermos y en 11 de los que si se contó con la información los niveles fueron bajos.

La albúmina se determinó 32 de los pacientes. Los datos de glucosa faltaron en siete individuos y en cinco mostraron cifras superiores a 120 mg/dl. Tanto para urea como para creatinina hubo carencia de resultados en ocho pacientes. Los niveles de colesterol sólo se obtuvieron en 26 sujetos y destaca que solo un paciente presentó 202 mg/dl, el resto de los evaluados tuvieron cifras inferiores a 200 mg/dl . No se contó con cifras de triglicéridos en 11 pacientes en siete había hipertrigliceridemia e incluso un paciente presentó 477 mg/dl.

En cuanto al calcio y fósforo, no se obtuvo la determinación en 23 pacientes para el primero y en 27 para el segundo, en ningún paciente hubo hipercalcemia y sólo dos presentaron cifras inferiores a 8 mg/dl, por otro lado hiperfosfatemia se identificó en diez individuos. Con respecto al número de sesiones de hemodialisis

34 pacientes reciben tres sesiones por semana, 10 acuden dos veces por semana y solo un paciente recibe su tratamiento una vez por semana esto por la falta de lugares en la Unidad de Hemodiálisis. En el cuadro 5 se muestra esta información.

Tabla 5. Características basales de los pacientes

Característica	Medias (X±DE)
Género	
Masculino	24
Femenino	21
Edad	42.35 (18.23)
Hipertensión Arterial	
Si	28
No	16
Antecedente de Diálisis	
Peritoneal	
Si	26
No	19
Hemoglobina	10.34 (2.06)
Hematócrito	31.99 (6.28)
Leucocitos	6.49 (2.23)
Plaquetas	218.09 (67.44)
Hierro	69.16 (44.98)
Albúmina	3.95 (0.48)
Glucosa	93.44 (31.08)
Urea	87.34 (46.70)
Creatinina	9.62 (12.03)
Colesterol	142.81 (39.01)
Triglicéridos	153.44 (106.50)

PCR	35.55 (53.72)
Calcio	8.66 (0.81)
Fósforo	5.51 (1.56)
No. Sesiones semanales	
3	34
2	10
1	1

Se realizó la determinación de genotipos entre pacientes y controles, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. El genotipo más frecuente en ambos grupos es el heterocigoto, los resultados se presentan en el tabla 6.

Tabla 6. Distribución de genotipos

Genotipo	Enfermos (45)	Sanos (72)	P *
I/I	12	18	0.9779
I/D	23	38	
D/D	10	16	

*Prueba Xi cuadrada

Debido a que la hipertensión es una de las complicaciones mas frecuentes y severas de la ERCT se consideró conveniente investigar la distribución de acuerdo a genotipos, también se evaluó el efecto del alelo mediante modelos aditivos. Se identificó diferencia estadísticamente significativa en la comparación de los tres genotipos, tal diferencia también se presentó en el modelo aditivo del alelo de la deleción. Lo que sugiere que el genotipo homocigoto para la deleción y el alelo de la deleción se asocian con hipertensión arterial sistémica. La información es presentada en el cuadro 7.

Tabla 7. Distribución de genotipo en pacientes con hipertensión

Genotipo	Hipertensos	No Hipertensos	P *
I/I	4 (14.29%)	8 (47.06%)	0.0466
I/D	16 (57.14%)	7 (41.18%)	
D/D	8 (28.57%)	2 (11.76%)	
D+ (ID + DD)	24 (85.71%)	9 (52.94%)	0.0341
I+ (II + ID)	20 (71.43%)	15 (88.24%)	0.2759

*Prueba Xi cuadrada

En función de que se identificaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los genotipos de pacientes hipertensos y los que no lo son. Se consideraba que los homocigotos para la delección podrían tener requerimientos de mayor número y dosis antihipertensivos, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. El genotipo heterocigoto fue el mas frecuente. Los resultados se presentan en el cuadro 8.

Tabla 8. Número de antihipertensivos utilizados por genotipo

Genotipo	1 Fármaco	2 Fármacos	3 o más Fármacos	P *
I/I	2	0	2	0.3096
I/D	3	4	10	
D/D	0	1	5	

*Prueba Xi cuadrada

Se ha sugerido que la prevalencia de la anemia puede ser mayor en los pacientes que presenten el alelo de la delección, sin embargo en el análisis no se encontraron diferencias significativas, como en los casos anteriores el genotipo heterocigoto fue el mas frecuente. Los resultados se presentan en el cuadro 8.

Tabla 9. Diferencia de hemoglobina por genotipo

Genotipo	Con Anemia	Sin Anemia	P *
I/I	3	9	0.5349
I/D	9	14	
D/D	5	5	

*Prueba Xi cuadrada

DISCUSIÓN

En el presente capítulo se discuten los resultados obtenidos en el estudio de acuerdo al objetivo y la hipótesis planteada para el mismo, apoyadas en la revisión previa de la literatura. El estudio se realizó en el Hospital General Regional No. 46 en la ciudad de Guadalajara, en Unidad de Hemodiálisis, en el participaron 45 pacientes y 72 sujetos clínicamente sanos, los cuales cumplían los criterios de inclusión para el estudio.

Se encontró que en la mayoría de los pacientes con ERCT, 58% de ellos, la primera terapia de sustitución renal fue la diálisis peritoneal, la cual ha mostrado ser más eficiente en preservar la función renal residual, se favorece así mayor sobrevida, esto se documentó en el estudio ADEMEX.^[53]

Con respecto a los resultados obtenido en los estudios de laboratorio cabe señalar que el 62.22% de los sujetos incluidos cumplen con la meta de hemoglobina recomendada para pacientes con ERCT. En los pacientes en los que se obtuvo la determinación de hierro sérico, este, permaneció por debajo de lo sugerido en el 31.5%. En cuanto a la albúmina se determinó en el 68.7% de los pacientes encontrándose por arriba de 4g/dL en el 71.11% de los mismos. La determinación de glucosa sérica se obtuvo del 84.45% de los pacientes incluidos y solo el 13, el 15% de estos la glucosa sérica se encontró por arriba de los 120mg/dl, debemos tomar en cuenta que el 26.67% de los pacientes que participaron en el estudio cuentan con el antecedente de Diabetes Mellitus 2.

Las cifras de colesterol se obtuvieron en el 57.78% de los sujetos y solo en 1 se reportó por arriba de 200mg/dl, el resto de los evaluados con cifras dentro de parámetros normales. Con respecto a la determinación de triglicéridos no se cuenta con reporte de resultado en el 24.44% de los pacientes, entre los resultados obtenidos solo el 20.59% presentaron hipertrigliceridemia. El Calcio serico se determinó en el 51.11% de los individuos y solo el 9.1% presento cifras por

debajo de los límites recomendados para pacientes con ERCT. La Hiperfosfatemia se presentó en el 55.55% de los pacientes, lo que constituye el problema mas frecuente y de difícil abordaje en la población de estudio. Los objetivos de tratamiento en el paciente en hemodiálisis se han definido a partir de las recomendaciones de expertos sustentadas en base a estudios clínicos. [54]

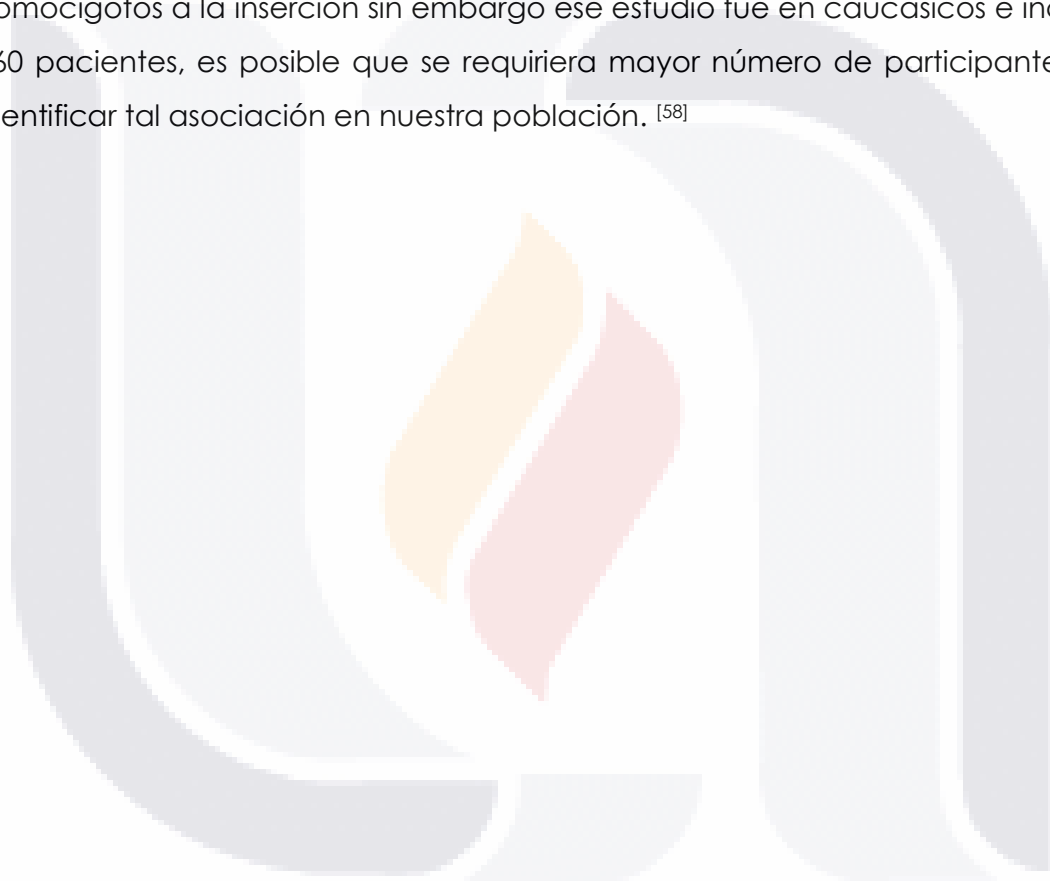
Se identificó que el 75% de los pacientes recibían algún bloqueador del SRAA de los cuales 71.43% correspondió a algún AT2, y el 28.51% a un IECA, el 25% restante de los pacientes con antecedente de HAS no recibe un fármaco de este grupo, aunque estos sean los antihipertensivos de primera elección para paciente con ERCT en hemodiálisis. [55]

Entre los pacientes con ERCT se encontró la siguiente distribución genética I/I 12 pacientes (26.67%), I/D 23 pacientes (51.11%), D/D 10 pacientes (22.22%); mientras que los en los sujetos aparentemente sanos la distribución fue la siguiente I/I 18 (25%), I/D 38 (52.78%), D/D 16 (22.22%). No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupo, en comparación con el estudio realizado por Tian-Biao Zhou et al. en el que se demostró que el alelo D o el genotipo D/D se asoció con un mayor riesgo de ERCT en la población en general y el genotipo D/D se asoció con susceptibilidad de ERCT en caucásicos. [56]

En este estudio se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los homocigotos para la delección y el alelo para la delección del gen ACE, con HAS, así como también se demuestra que estos pacientes requieren mayor número de antihipertensivos con respecto a los homocigotos para la inserción o los heterocigotos, comparado con el estudio de Srivastava K, et al. en el que se identificó que el alelo para la inserción se asocia con HAS. Se observó también que los pacientes que presentaron el genotipo homocigoto para la delección requirieron mayor número y dosis de antihipertensivos, lo que sería congruente

con los efectos biológicos de angiotensina II, principalmente la vasoconstricción en arteriola eferente y a nivel sistémico. ^[57]

Se trató de evidenciar si había asociación del alelo de la delección con anemia, sin embargo no se encontró. Existe al menos un reporte en la literatura que identificó asociación del genotipo DD, alelo D y empleo de iECA con menores niveles hemoglobina y mayor resistencia a eritropoyetina respecto de los homocigotos a la inserción sin embargo ese estudio fue en caucásicos e incluyó a 660 pacientes, es posible que se requiriera mayor número de participantes para identificar tal asociación en nuestra población. ^[58]

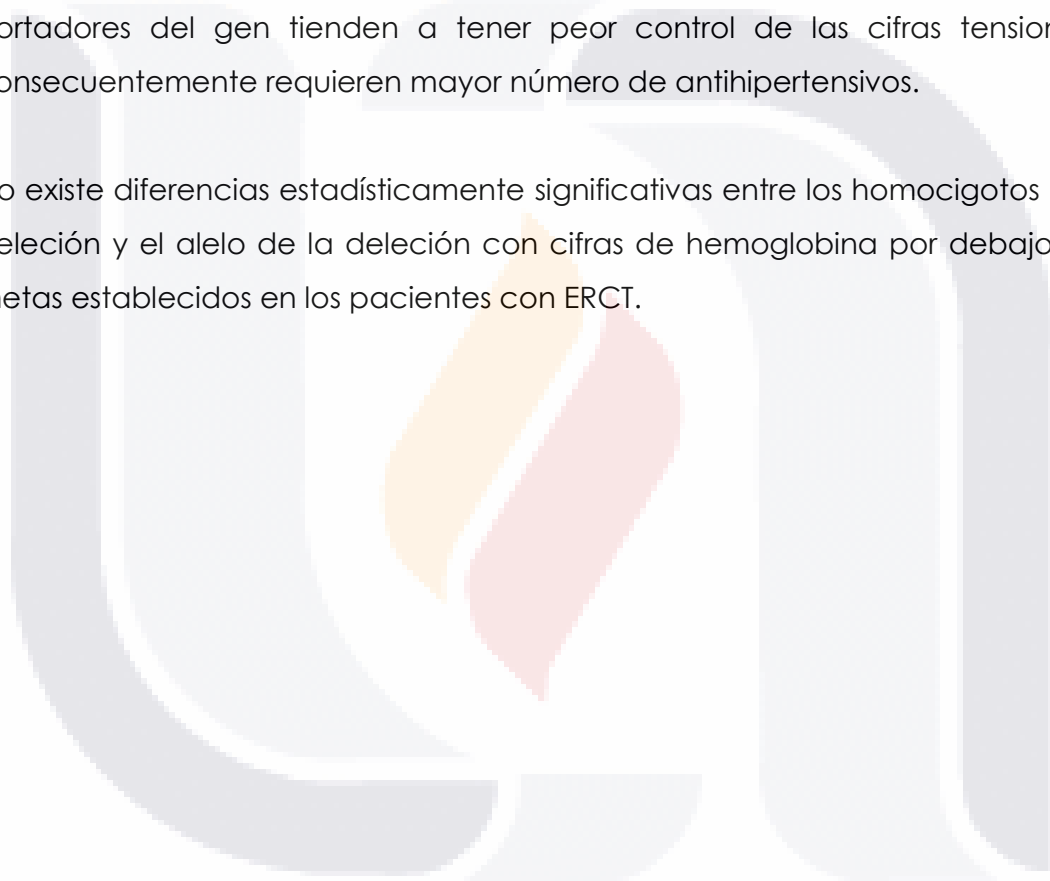


CONCLUSIÓN

No hay diferencias significativas entre la distribución de alelos y genotipo del gen *ACE* en los pacientes con ERCT del Hospital General Regional 46.

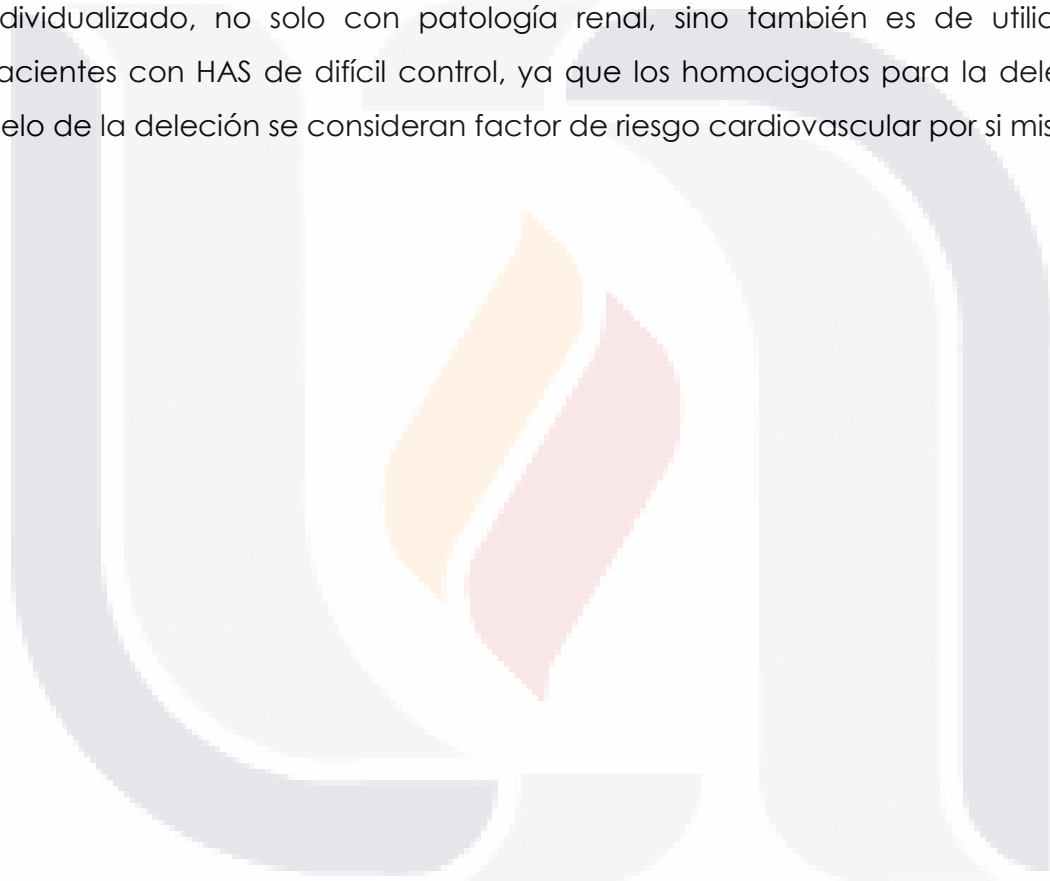
Existe asociación de los homocigotos para la delección y el alelo de la delección con HAS en pacientes con ERCT, por lo tanto se deduce que aquellos pacientes portadores del gen tienden a tener peor control de las cifras tensionales y consecuentemente requieren mayor número de antihipertensivos.

No existe diferencias estadísticamente significativas entre los homocigotos para la delección y el alelo de la delección con cifras de hemoglobina por debajo de las metas establecidos en los pacientes con ERCT.



RECOMENDACIONES

Las recomendaciones generales para un paciente con ERCT podrían incluir la genotipificación de alelos y genotipos del gen *ACE*, ya que con ello podríamos conseguir la identificación de los pacientes que presenten HAS secundaria a la patología renal y aunque no podemos modificarlo, ni influir directamente en el genotipo que cada paciente presente, es una herramienta útil para un estudio individualizado, no solo con patología renal, sino también es de utilidad en pacientes con HAS de difícil control, ya que los homocigotos para la delección y alelo de la delección se consideran factor de riesgo cardiovascular por si mismos.



BIBLIOGRAFÍA

1. Skorecki K, G. J. (2001). Chronic Renal Failure. En K. D. Fauci AS, Harrison´s Principles of Internal Medicine (págs. 1551-1562). McGraw-Hill.
2. K/DOQI. (2002). clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Am J Kidney Dis , 39 (S1), 1-266.
3. Ajay K. Israni, B. L. (2007). Laboratory Assessment of Kidney Disease: Clearance, Urinalysis, and Kidney Biopsy. En S. A. Barry M Brenner, Brenner and Rector's The Kidney (8th ed., págs. 724-58). Philadelphia, PA, USA: Saunders Elsevier.
4. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. VOLUME 2, SUPPLEMENT 1. MARCH 2012
5. Caravaca F, A. M. (2003). Progression of renal insuficiency in the pre-end-stage renal disease setting. Nefrología , 23, 510-19.
6. Stack AG, M. D. (2003). Impact of dialysis modality on survival of new ESRD patients with congestive Heart failure in the United States. Kidney Int , 64, 1071-79.
7. Christoph Hasslacher and Sonja Bohm (2004) Diabetic Kidney Disease by John Wiley & Sons Diabetes and the Kidney (pag 6-16). Wiley
8. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention and Treatment of Chronic Kidney Disease. Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) VOLUME 76 SUPPLEMENT 113. August 2013.
9. US Renal Data System.USRDS 2011 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. Am J Kidney Dis. 2012;59(1)(suppl 1):e1-e420.
10. Cusumano, A.M. and M.C. Gonzalez Bedat, Chronic kidney disease in Latin America: time to improve screening and detection. Clin J Am Soc Nephrol, 2008. 3(2): p. 594-600.

11. Teplitzky, V., Y. Shoenfeld, and A. Tanay, The renin-angiotensin system in lupus: physiology, genes and practice, in animals and humans. *Lupus*, 2006. 15(6): p. 319-25.
12. Chawla, T., D. Sharma, and A. Singh, Role of the renin angiotensin system in diabetic nephropathy. *World J Diabetes*, 2010. 1(5): p. 141-5.
13. Alpern R, C.M., Moe O, Selding and Giebisch's *The Kidney Physiology and Pathophysiology*. 5th ed. 2013, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
14. Hunyady, L. and K.J. Catt, Pleiotropic AT1 receptor signaling pathways mediating physiological and pathogenic actions of angiotensin II. *Mol Endocrinol*, 2006. 20(5): p. 953-70.
15. Kim, S. and H. Iwao, Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev*, 2000. 52(1): p. 11-34.
16. Benigni, A., P. Cassis, and G. Remuzzi, Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. *EMBO Mol Med*, 2010. 2(7): p. 247-57.
17. Wenzel, U.O., C. Krebs, and R. Benndorf, The angiotensin II type 2 receptor in renal disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2010. 11(1): p. 37-41.
18. Touyz, R.M. and C. Berry, Recent advances in angiotensin II signaling. *Braz J Med Biol Res*, 2002. 35(9): p. 1001-15.
19. De Gasparo, M., et al., International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*, 2000. 52(3): p. 415-72.
20. Ruiz-Ortega, M., et al., Proinflammatory actions of angiotensins. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2001. 10(3): p. 321-9.
21. Ushio-Fukai, M., et al., Angiotensin II receptor coupling to phospholipase D is mediated by the betagamma subunits of heterotrimeric G proteins in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*, 1999. 55(1): p. 142-9.
22. Touyz, R.M., et al., Angiotensin II stimulates DNA and protein synthesis in vascular smooth muscle cells from human arteries: role of extracellular signal-regulated kinases. *J Hypertens*, 1999. 17(7): p. 907-16.
23. Saito, Y. and B.C. Berk, Angiotensin II-mediated signal transduction pathways. *Curr Hypertens Rep*, 2002. 4(2): p. 167-71.

24. Chiu, T., C. Santiskulvong, and E. Rozengurt, EGF receptor transactivation mediates ANG II-stimulated mitogenesis in intestinal epithelial cells through the PI3-kinase/Akt/mTOR/p70S6K1 signaling pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005. 288(2): p. G182-94.
25. Shah, B.H., et al., Differential pathways of angiotensin II-induced extracellularly regulated kinase 1/2 phosphorylation in specific cell types: role of heparin-binding epidermal growth factor. *Mol Endocrinol*, 2004. 18(8): p. 2035-48.
26. Seta, K., et al., AT1 receptor mutant lacking heterotrimeric G protein coupling activates the Src-Ras-ERK pathway without nuclear translocation of ERKs. *J Biol Chem*, 2002. 277(11): p. 9268-77.
27. Seshiah, P.N., et al., Angiotensin II stimulation of NAD(P)H oxidase activity: upstream mediators. *Circ Res*, 2002. 91(5): p. 406-13.
28. Chen, X., et al., STAT proteins mediate angiotensin II-induced production of TIMP- 1 in human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int*, 2003. 64(2): p. 459-67.
29. Border, W.A. and N.A. Noble, Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin II in renal fibrosis. *Hypertension*, 1998. 31(1 Pt 2): p. 181-8.
30. Mezzano, S.A., M. Ruiz-Ortega, and J. Egido, Angiotensin II and renal fibrosis. *Hypertension*, 2001. 38(3 Pt 2): p. 635-8.
31. Wennmann, D.O., H.H. Hsu, and H. Pavenstadt, The renin-angiotensin-aldosterone system in podocytes. *Semin Nephrol*, 2012. 32(4): p. 377-84.
32. Hornig, B., C. Kohler, and H. Drexler, Role of bradykinin in mediating vascular effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors in humans. *Circulation*, 1997. 95(5): p. 1115-8.
33. Fleming, I., Signaling by the angiotensin-converting enzyme. *Circ Res*, 2006. 98(7): p. 887-96.
34. Skidgel, R.A. and E.G. Erdos, Novel activity of human angiotensin I converting enzyme: release of the NH₂- and COOH-terminal tripeptides from the luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985. 82(4): p. 1025-9.

35. Yang, F., et al., Ac-SDKP reverses inflammation and fibrosis in rats with heart failure after myocardial infarction. *Hypertension*, 2004. 43(2): p. 229-36.
36. Savaskan, E., et al., Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia. *Neurobiol Aging*, 2001. 22(4): p. 541-6.
37. Oparil, S., J. Low, and T.J. Koerner, Altered angiotensin I conversion in pulmonary disease. *Clin Sci Mol Med Suppl*, 1976. 51(6): p. 537-43.
38. Rigat, B., et al., An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*, 1990. 86(4): p. 1343-6.
39. Nussbaum, R.L., et al., *Thompson & Thompson genetics in medicine*. 7th ed. 2007, Philadelphia: Saunders/Elsevier. xi, 585 p.
40. Jeunemaitre, X., Genetics of the human renin angiotensin system. *J Mol Med (Berl)*, 2008. 86(6): p. 637-41.
41. Vargas-Alarcon, G., et al., Angiotensin-converting enzyme gene (ACE) insertion/deletion polymorphism in Mexican populations. *Hum Biol*, 2003. 75(6): p. 889-96.
42. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Resultados Nacionales 2012
<http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>
43. Franco-Marina F., et al., Una estimación indirecta de las desigualdades actuales y futuras en la frecuencia de la enfermedad renal crónica terminal en México. *Salud Publica Mex* 2011;53 supl 4:S506-S515
44. Méndez-Durán A., et al., Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Dial Traspl* 2010;31(1):7-11
45. Van der Sman-de BF, Verhagen C, Rombach SM, et al. ACE I/D polymorphism is associated with mortality in a cohort study of patients starting with dialysis. *Kidney Int* 2005; 68: 2237-2243.
46. Yu ZY, Chen LS, Zhang LC, et al. Meta-analysis of the relationship between ACE I/D gene polymorphism and end-stage renal disease in patients with diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2012; 17: 480-487.

47. Chang HR, Cheng CH, Shu KH, et al. Study of the polymorphism of angiotensinogen, anigiotensin-converting enzyme and angiotensin receptor in type II diabetes with end-stage renal disease in Taiwan. *J Chin Med Assoc* 2003; 66: 51–56.
48. Buraczynska M, Ksiazek P, Drop A, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 979–983.
49. Zsom M, Fulop T, Zsom L, et al. Genetic polymorphisms and the risk of progressive renal failure in elderly Hungarian patients. *Hemodial Int* 2011; 15: 501–508.
50. Tripathi G, Sharma RK, Baburaj VP, et al. Genetic risk factors for renal failure among north Indian ESRD patients. *Clin Biochem* 2008; 41: 525–531.
51. Pereira TV, Nunes AC, Rudnicki M, et al. Influence of ACE I/D gene polymorphism in the progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease: A meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3155–3163.
52. Lau YK, Woo KT, Choong HL, et al. ACE gene polymorphism and disease progression of IgA nephropathy in Asians in Singapore. *Nephron* 2002; 91: 499–503.
53. Piraino B. ADEMEX: How should it change our practice?. *Peritoneal Dialysis International* 2002; 22: 552-554.
54. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease and mortality: an integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998; 32:1-10.
55. Tina-Biao Zhou, Shen-Sheng Yin and Yuan-Han Qin. Association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gen polymorphism and end-stage renal disease susceptibility. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 2014, Vol. 15(1) 22-31.
56. Srivastava K, Sundriyal R, Meena PC et al. Association of angiotensin converting enzyme (insertion/deletion) gene polymorphism with essential hypertendion in northern Indian subjects. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012 Mar;16(3):174-177

57. Zoltán Kiss, Csaba Ambrus, Imre Kulcsár et al. Effect of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and angiotensin-converting enzyme inhibition on erythropoiesis in patients on haemodialysis. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 2014, 1-7.



ANEXOS

Anexo A. Cronograma de actividades

Anexo B. Consentimiento informado



Anexo A. Cronograma de actividades

Actividades	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Diseño de estudio	X	X										
Marco teórico			X	X	X	X	X					
Toma de muestras								X				
Procesamiento de muestras								X				
Captación de resultados								X	X			
Integración de variables										X		
Análisis de resultados										X	X	
Término de tesis											X	
Revisión de tesis											X	
Entrega de tesis												X
Examen de grado												X

Anexo B. Consentimiento informado

Asociación del polimorfismo Inserción/Delección de la Enzima Convertidora de Angiotensina con Enfermedad Renal Crónica Terminal en tratamiento sustitutivo renal modalidad hemodiálisis

Investigadores

Dra. Elizabeth Aguilar Pérez

Dr. Jorge Fernando Topete Reyes

Dr. Francisco Javier Serna Vela

Le invitamos a participar en un estudio clínico que consistirá en hacer un interrogatorio acerca de sus antecedentes personales y familiares, exploración física y una extracción de sangre periférica, esta última será procesada y analizada con fines de investigación.

Por cuestiones de ética, es necesario que usted este informado sobre la naturaleza y propósitos, riesgos y beneficios. Es importante que lea este documento y aclare cualquier duda antes de aceptar su participación.

Propósito

El propósito de este estudio es identificar genes que podrían estar asociados con incremento en factores de riesgo cardiovascular. Dichos genes podrían modificar el curso clínico y en el tratamiento de su enfermedad.

Descripción de los procedimientos

Una vez informado y que usted firme esta carta de consentimiento, se realizará una historia clínica y la extracción de la muestra de sangre periférica en 2 tubos de muestra (aproximadamente 8 mL de sangre).

Riesgos

Ninguno, se tomará la muestra de vena periférica y solo es esperable una leve molestia al momento de la punción y un discreto hematoma (morete) posterior a la punción.

Nuevos hallazgos

Se le puede mantener informado de los resultados obtenidos con su muestra en los experimentos realizados en el laboratorio. La información será dirigida a usted directamente por medio de nosotros o por medio de su médico tratante.

Beneficios potenciales

Identificar genes de severidad de la enfermedad y/o características de la enfermedad propiamente dicha.

Confidencialidad

Usted tiene el derecho a la privacidad, y toda la información que se obtenga en relación a este estudio que pueda identificarlo por su nombre permanecerá en anonimato. Su nombre no será revelado en ninguno de los informes o publicaciones que se deriven de este estudio. Al firmar este consentimiento, Usted otorga su permiso para que su expediente médico pueda ser revisado o copiado por los representantes permitidos por las autoridades de salud pertinentes y por el comité de ética responsable.

Suspensión voluntaria de su participación en el estudio

Su participación en este estudio es voluntaria y puede Usted rehusarse a participar en cualquier momento sin que esto involucre alguna sanción o pérdida de sus derechos como paciente y puede cambiar de opinión y/o suspender su participación en cualquier momento.

Compensación por lesiones

Si usted presenta algún problema asociado a la realización de los estudios, favor de comunicarse al teléfono 3313615842 perteneciente a Elizabeth Aguilar Pérez, médico participante en el estudio para aclarar cualquier duda de la viabilidad y principios éticos del proyecto. No habrá forma de compensación económica. Al firmar este documento, Usted no perderá ningún derecho legal como participante de un estudio de investigación.

He leído y entendido el estudio de investigación, escrito en mi propio idioma. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y todas mis dudas han sido aclaradas por mi médico a mi entera satisfacción. Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme en cualquier momento sin perjuicio o sin que esto influya en mi atención médica futura. Se me ha entregado una copia de este consentimiento y al firmar este documento autorizo mi participación en el estudio.

Dirección	Nombre del paciente	Teléfono
	Firma	

Fecha:

Testigos:

Nombre	Firma
Nombre	Firma