Dial Traspl. 2011;32(1):5—12

Diálisis y Trasplante

www.elsevier.es/dialis

ORIGINAL

Influencia genética en la mortalidad de pacientes diabéticos de tipo 2 en diálisis

Ariadna Padró Miquel[a,*], **Mª Teresa González Álvarez**[b] y **Pedro Alía Ramos**[a]

[a] *Laboratori Clínic, Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, España*
[b] *Servicio de Nefrología, Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona, España*

Recibido el 15 de junio de 2010; aceptado el 10 de noviembre de 2010

PALABRAS CLAVE
Nefropatía diabética;
Polimorfismo;
Sistema renina-angiotensina

Resumen

Introducción y objetivo: La nefropatía diabética origina un tercio de los casos de enfermedad renal terminal en España. Este proceso parece tener cierta susceptibilidad genética, tal y como han demostrado distintos estudios de agrupación familiar. Dado que los fármacos inhibidores del sistema renina-angiotensina tienen efecto sobre dicha enfermedad, parece lógico estudiar polimorfismos pertenecientes a genes de este sistema como son: I/D de la enzima convertidora de angiotensina 1 (ACE1), p.M235T del angiotensinógeno (AGT), g.1166A>C del receptor de angiotensina 2 de tipo 1 (AGTR1) y tres polimorfismos de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2): rs4646124, rs2285666 y rs879922.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación de los polimorfismos mencionados con el tiempo de supervivencia de pacientes diabéticos de tipo 2 en diálisis.

Métodos: Se estudiaron 100 pacientes, de los cuales se recogieron las fechas tanto de entrada al programa de diálisis como de mortalidad, junto con otras características de interés clínico. La genotipación de cada individuo se realizó mediante PCR a tiempo real.

Resultados: Las curvas de supervivencia halladas para cada polimorfismo no presentaron diferencias significativas entre los genotipos. Sin embargo, las regresiones de Cox que permitieron la inclusión de otras variables clínicas evidenciaron diferencias significativas en el ACE1 (p = 0,013) y el *AGT* (p = 0,015).

De cada polimorfismo se escogió el alelo que se asociaba a una mayor mortalidad y se creó una nueva variable llamada ''nº de alelos de riesgo''. Se observó que el riesgo relativo de muerte se multiplicaba por 1,42 (IC 95%:1,15-1,77; p = 0,0009) por cada alelo de riesgo adicional que tenía el paciente —D (ACE1), M (AGT), A (AGTR1) y G (ACE2, rs4646124)—. Resultados similares se obtuvieron excluyendo el genotipo AGTR1 (1,46; IC 95%:1,16-1,84; p = 0,0014).

Conclusiones: La presencia combinada de estas variantes de genes del sistema renina-angiotensina tiene un papel significativo en el riesgo de mortalidad de pacientes diabéticos de tipo 2 en diálisis.

© 2010 SEDYT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: apadro@bellvitgehospital.cat (A. Padró Miquel).

1886-2845/$ – see front matter © 2010 SEDYT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.
doi:10.1016/j.dialis.2011.02.001

KEYWORDS
Diabetic nephropathy;
Polymorphism;
Renin-angiotensin system

Influence of genetic factors on mortality in patients with type II diabetes under dialysis

Abstract
Introduction and aim: Diabetic nephropathy causes one-third of cases of end-stage renal disease in Spain. Several familial clustering studies have shown that genetic susceptibility may be involved in this pathologic process. Since renin-angiotensin system inhibitors have an important effect on this disease, it seems rational to study polymorphisms belonging to genes of this system such as angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) I/D, angiotensinogen (AGT) p.M235T, type 1 angiotensin II receptor (AGTR1) g.1166A>C and three polymorphisms of the type 2 angiotensin-converting enzyme (ACE2): rs4646124, rs2285666 and rs879922.

The aim of this study was to evaluate the relationship between these polymorphisms and survival time of type II diabetic patients undergoing dialysis.
Methods: We included 100 patients. We collected both the dates of entry in the dialysis program and death, along with other clinical features of interest. Individual genotypes were assigned by real-time polymerase chain reaction.
Results: The survival curves for each polymorphism showed no significant differences between genotypes. However, multivariate Cox regression analysis, which allowed inclusion of other clinical variables, revealed statistically significant differences in the ACE1 ($p = 0.013$) and AGT ($p = 0.015$) polymorphisms.

For each variant, we chose the allele that carried the highest mortality risk and created a new variable called ''number of risk alleles''. The relative risk of death was multiplied by 1.42 (95%:1.15-1.77 $p = 0.0009$) for each additional risk allele carried by the patient: D (ACE1), M (AGT), A (AGTR1) and G (ACE2, rs4646124). Similar results were obtained when the AGTR1 genotype was excluded (95% CI 1.46: 1.16-1.84 $p = 0.0014$).
Conclusions: The combination of these allelic variants of the renin-angiotensin system genes plays a significant role in the mortality risk of type II diabetic patients on dialysis.
© 2010 SEDYT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La nefropatía es una de las complicaciones más graves de la diabetes mellitus y se asocia a un incremento del riesgo de mortalidad prematura por enfermedad cardiovascular. Es la primera causa de insuficiencia renal terminal en los países desarrollados[1], con un notable incremento en las últimas décadas y con previsión de seguir creciendo en los próximos años[2,3]. En la actualidad, el acceso a hemodiálisis y trasplante renal han desplazado la insuficiencia renal al tercer lugar como causa de muerte del paciente diabético, después de la cardiopatía isquémica y del accidente vascular cerebral.

La supervivencia media a los dos años del paciente en diálisis es del 67%, mientras que a los 10 años es únicamente del 11%[4]. Las principales causas de muerte de estos pacientes son enfermedades cardiovasculares (50%), caquexia (22%) y septicemia (11%)[5]. Tanto la mortalidad como la comorbilidad de los pacientes con tratamiento renal sustitutivo es peor entre los diabéticos que entre los no diabéticos[1].

El desarrollo de nefropatía diabética parece tener cierta susceptibilidad genética tal y como han demostrado distintos estudios de agrupación familiar[6]. Los genes del sistema renina-angiotensina (RAS) han tomado una gran importancia, dada la evidencia científica que adjudica a la angiotensina II una actividad esencial en la hipertensión intraglomerular, y dado que la progresión de la nefropatía se enlentece cuando este sistema es inhibido farmacológicamente[7].

Las tres variantes más ampliamente estudiadas del RAS en la susceptibilidad y desarrollo de la nefropatía diabética son una inserción/ deleción (I/D) del gen que codifica para la enzima convertidora de angiotensina I (ACE1), la variante p.M235T del gen que codifica para el angiotensinógeno (AGT) y la variante g.1166A>C del gen que codifica para el receptor de angiotensina II de tipo 1 (AGTR1). Sin embargo, su estudio en relación con la mortalidad en diálisis es muy escaso. El alelo D de la variante del ACE1, que conlleva una síntesis más elevada de la enzima, se ha relacionado con un incremento del riesgo de mortalidad de los pacientes en diálisis[8], pero no existen estudios concluyentes con respecto a las otras dos variantes[9].

Por otro lado, el gen ACE2, de reciente descubrimiento y que codifica para la enzima convertidora de angiotensina I de tipo 2, se ha considerado como un factor protector del riñón, dado que en los pacientes sanos se ha encontrado una expresión en tejido renal superior a los pacientes con nefropatía diabética[10]. Algunas variantes pertenecientes a este gen han sido estudiadas en relación con la enfermedad cardiovascular, pero no se ha explorado su efecto sobre la mortalidad del paciente en diálisis.

En el presente trabajo hemos estudiado la asociación de las variantes de los genes ACE1 (I/D), AGT (p.M235T) y AGTR1 (g.1166A>C), y también tres variantes de haplotipos distintos del gen ACE2 (rs4646124, rs2285666 y rs879922)

Tabla 1 Media e intervalo de confianza del 95% (IC 95%) de las características recogidas en la instauración de la diálisis

Covariable	Media (IC 95%)
Edad (años)	68,2 (66,4 - 70,1)
MDRD residual (ml/ min/ 1,73 m^2)	8,7 (8,0 - 9,3)
San-leucocitos (x10^9 /l)	8,7 (8,0 - 9,3)
San-hemoglobina (g/ l)	117,5 (113,3 - 121,6)
Srm-colesterol (mmol/ l)	4,5 (4,3 - 4,7)
Srm-albúmina (g/ l)	38,1 (37,0 - 39,2)
Hb (San)-hemoglobina A_{1c} (%)	6,5 (6,3 - 6,8)

con la mortalidad en pacientes diabéticos tipo 2 en diálisis. Dado que el efecto de los genes sobre la mortalidad podría ser poligénico, fruto de la interacción entre distintas variantes, hemos valorado tanto el efecto individual como el combinado.

Pacientes y métodos

En el presente estudio se han seleccionado 100 pacientes diabéticos tipo 2 con nefropatía que han iniciado tratamiento con diálisis en nuestro centro hospitalario entre los años 1993 y 2008, y que han dado su consentimiento para participar en el trabajo. Los pacientes que murieron durante los primeros tres meses del inicio de diálisis fueron excluidos porque probablemente otros factores clínicos previos a la instauración del tratamiento contribuyeron al desenlace[8]. Se hizo un seguimiento de los pacientes desde la fecha en que iniciaron la diálisis hasta la fecha en que se produjo el evento estudiado, definido como ''mortalidad''. Para los pacientes que no murieron durante el seguimiento se recogió la fecha de la pérdida, ya fuese por transferencia a otro centro de diálisis o por trasplante renal, o la fecha de fin de estudio para el resto.

Para cada paciente se recogieron los datos relativos a sexo, comorbilidad cardiovascular, historia de hipertensión no controlada y filtración glomerular renal a la primera visita en el hospital (MDRD basal) como características previas a la diálisis. En el momento de la instauración se recogieron adicionalmente los datos relativos a modalidad (hemodiálisis o diálisis peritoneal), filtración glomerular renal (MDRD residual), fracción de hemoglobina glucosilada, concentración de leucocitos y de hemoglobina en sangre y concentración de albúmina y de colesterol en plasma. Se ha utilizado la fórmula MDRD-4 para calcular la filtración glomerular renal[11].

La genotipación de los pacientes se llevó a cabo con ADN extraído a partir de leucocitos presentes en sangre periférica siguiendo un procedimiento estándar (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche®).

La descripción metodológica para el estudio de las variantes ACE1 (I/D), AGT (p.M235T) y AGTR1 (g.1166A>C) está detallada en Padró et al[12]. Para la genotipación de las tres variantes del gen ACE2 se ha empleado la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real con sondas Taqman® (Applied Biosystems) alelo-específicas. Se ha amplificado el producto con la polimerasa iQ™ Supermix (Bio-Rad) en un termociclador con detector de fluorescencia (iQ5 Cycler, Bio-Rad) siguiendo el protocolo recomendado.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SPSS statistical software (Version 15.0 for Windows; SPSS, Chicago, US). Se consideró significativa una $p < 0,05$. Para la interpretación de los resultados de la PCR a tiempo real se trabajó con el programa Bio-Rad iQ5 Optical System Software v. 2.0.

Se llevó a cabo un análisis de la supervivencia mediante la comparación de curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (prueba de *log-rank*). Se controló por otras variables mediante modelos multivariantes de regresión de Cox. Se utilizó la modalidad *backward*, y únicamente las variables que se mantienen en los modelos finales se muestran en las tablas de resultados.

El estudio de la interacción entre polimorfismos se hizo agrupando alelos de riesgo tal y como describen Jacobsen et al[13].

Resultados

El estudio ha incluido 56 hombres y 44 mujeres, todos ellos diabéticos tipo 2 con insuficiencia renal terminal. El 56% de los pacientes estudiados sufrieron algún tipo de accidente cardiovascular previo a la instauración de diálisis, y el 54% presentaba historia de hipertensión previa no controlada. La media de la filtración glomerular a la primera visita al nefrólogo fue de 38,7 (35,1 - 42,4) ml/ min/ 1,73 m^2. El 25% de los pacientes iniciaron diálisis peritoneal mientras que el resto optó por hemodiálisis. La tabla 1 muestra los datos que se recogieron en el momento de la instauración de la diálisis.

Tabla 2 Frecuencias genotípicas —expresadas en porcentaje— de las 6 variantes, acompañadas de la significación estadística de la comparación de proporciones (prueba de χ^2) obtenida al comprobar el equilibrio de Hardy-Weinberg

Variante		Frecuencias genotípicas (%)			p (χ^2)
ACE1		DD (33)	ID (52)	II (15)	0,756
AGT		MM (32)	MT (56)	TT (11)	0,185
AGTR1		AA (53)	AC (43)	CC (4)	0,402
ACE2 rs4646124	mujeres:	AA (55)	AG (35)	GG (10)	0,742
	hombres[a]:	A (68)		G (32)	—
ACE2 rs2285666	mujeres:	CC (65)	CT (30)	TT (5)	0,925
	hombres[a]:	C (76)		T (24)	—
ACE2 rs879922	mujeres:	GG (10)	GC (40)	CC (50)	0,956
	hombres[a]:	G (28)		C (72)	—

[a] En los hombres las distribuciones son alélicas en vez de genotípicas.

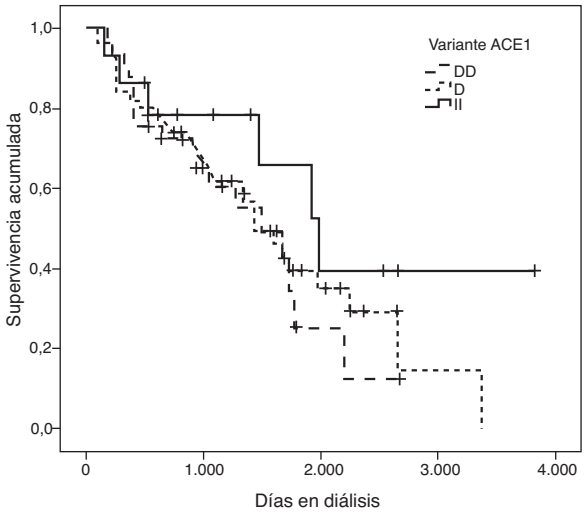

Figura 1 Curva de supervivencia de la variante I/D del gen ACE1 (p = 0,198).

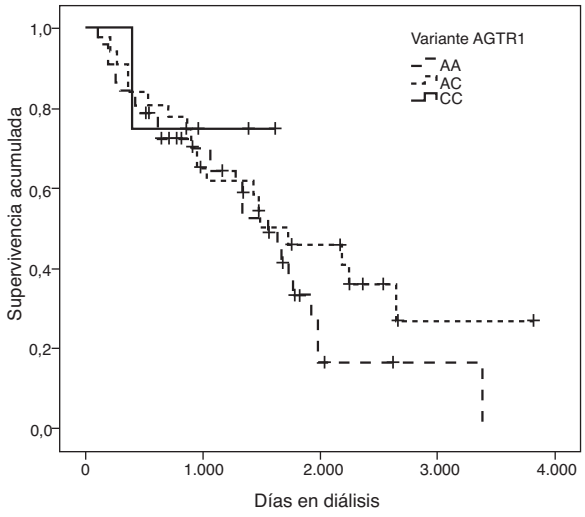

Figura 3 Curva de supervivencia de la variante g.1166A>C del gen AGTR1 (p = 0,189).

La media del tiempo de seguimiento de estos pacientes fue de 1.147 días (994 - 1.300), con un máximo de 3.811 días (10,4 años), durante el cual 53 pacientes murieron, tres fueron sometidos a trasplante renal y 4 abandonaron el estudio.

Las frecuencias genotípicas de las 6 variantes estudiadas se hallan resumidas en la tabla 2. En todos los casos se cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg. Dado que el gen ACE2 se halla en el cromosoma X, las mujeres tienen 2 alelos, pero los hombres sólo tienen uno. Para simplificar la presentación de los resultados los hombres se han tratado como homocigotos cuando se analizan conjuntamente con las mujeres.

La representación gráfica de las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier se puede ver en las figuras 1—6, junto con la significación estadística de la prueba de *log-rank* para la comparación de las curvas en función del genotipo. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso. Sin embargo, cuando se estudia el riesgo de mortalidad controlando por el resto de variables mediante regresiones de Cox, se hallaron diferencias tanto en la variante del ACE1 como en la del AGT. Los pacientes con genotipo DD (ACE1) muestran 3,5 veces más riesgo de mortalidad que los individuos II (HR = 3,5; IC 95% = 1,3 -9,9; p = 0,017), mientras que los pacientes con genotipo MM (AGT) presentan 3,8 veces más riesgo de morir que los pacientes con genotipo TT (HR = 3,8; IC 95% = 1,2 - 12,4; p = 0,025).

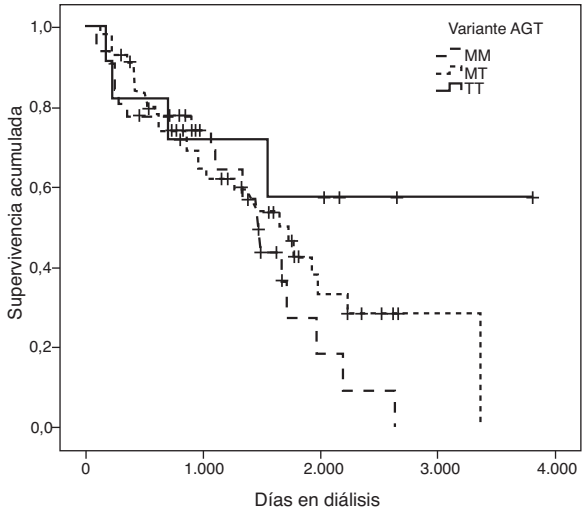

Figura 2 Curva de supervivencia de la variante p.M235T del gen AGT (p = 0,076).

A partir de las tendencias observadas en las curvas de supervivencia para cada variante se seleccionó el alelo que parecía conferir un mayor riesgo de mortalidad, exceptuando la variante rs2285666 del gen ACE2, dado que las curvas se entrecruzan incluso parar los hombres. Se consideraron los siguientes alelos de riesgo: D (I/D), M (p.M235T), A (g.1166A>C), G (*ACE2*, rs4646124) y G (*ACE2*, rs879922*)*. Se construyó una nueva variable denominada ''número de alelos de riesgo'' que se obtiene sumando los alelos de riesgo que tiene cada paciente. Por tanto, esta variable puede tomar valores entre 0 —para los pacientes con ningún alelo de riesgo— y 10 —para los pacientes que tienen los dos alelos de riesgo posibles para las 5 variantes—.

Se llevaron a cabo regresiones con todas las posibles combinaciones de 2, 3, 4 y 5 variantes. En el caso de combinaciones de dos variantes la combinación que mejor explicaba el riesgo de morir en diálisis era la formada por los genes ACE1 y AGT. Para combinaciones de tres variantes el modelo que mejor explicaba el riesgo de morir era el que añadía la variante rs4646124 del gen ACE2, mientras que para los modelos de 4 variantes se incorporó el gen *AGTR1* (tabla 3). Ambas adiciones sucesivas mejoraban la estimación del riesgo de morir en diálisis. Sin embargo, el modelo con las 5 variantes no mejoró esta estimación.

Tal como se puede observar en la tabla 3, para la combinación de 4 variantes el riesgo relativo de mortalidad en diálisis resultó ser un 42% mayor por cada alelo de riesgo de más que presentaba el paciente, de tal forma que un paciente que tuviera los 8 alelos de riesgo —DD (I/D), MM (p.M235T), AA (g.1166A>C) y GG (ACE2, rs4646124)—

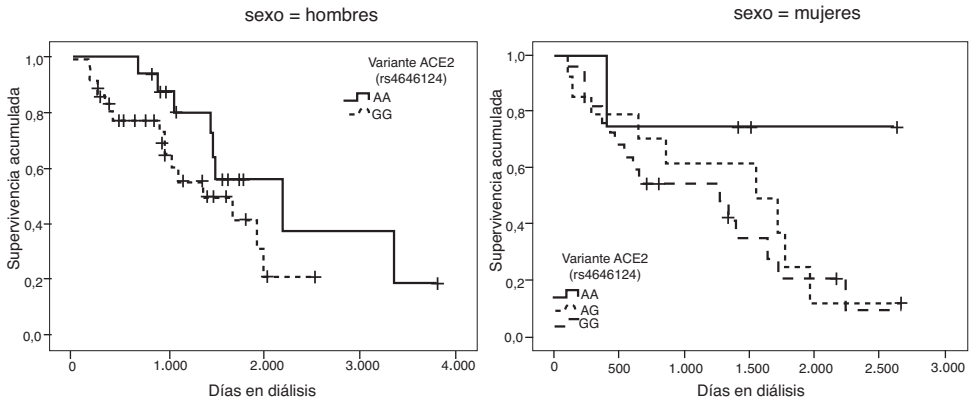

Figura 4 Curva de supervivencia de la variante rs4646124 del gen ACE2 en hombres (curva de la izquierda, p = 0,134) y en mujeres (curva de la derecha, p = 0,317).

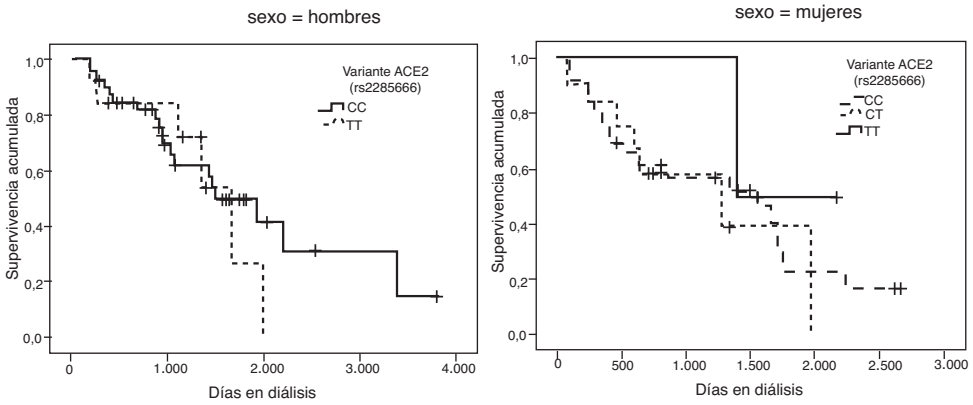

Figura 5 Curva de supervivencia de la variante rs2285666 del gen ACE2 en hombres (curva de la izquierda, p = 0,559) y en mujeres (curva de la derecha, p = 0,655).

tendría un riesgo de morir 16,5 veces superior a un paciente que no tuviera ningún alelo de riesgo. Este efecto fue estadísticamente significativo (p = 0,0009).

Con el fin de ejemplificar este hallazgo se confeccionó una curva de supervivencia clasificando los pacientes en dos grupos: los que tenían hasta 4 alelos de riesgo y los que presentaban entre 5 y 8 alelos de riesgo (fig. 7). La divergencia entre las dos curvas es notable y efectivamente queda demostrada con la significación estadística de la prueba de log rank (p = 0,002).

Discusión

La existencia de factores genéticos en el desarrollo y progresión de la nefropatía en el paciente diabético se considera

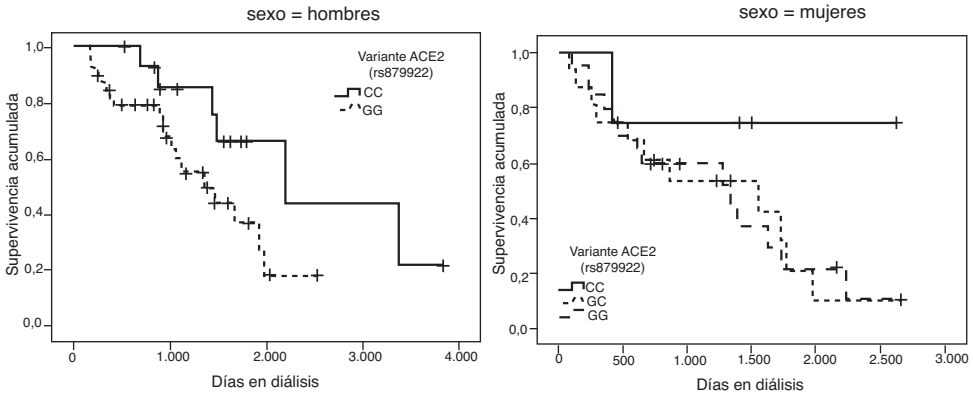

Figura 6 Curva de supervivencia de la variante rs879922 del gen ACE2 en hombres (curva de la izquierda, p = 0,058) y en mujeres (curva de la derecha, p = 0,379).

Tabla 3 Coeficientes de correlación de Cox de los modelos multivariantes que relacionan la variable ''número de alelos de riesgo'' con el riesgo de mortalidad en diálisis, acompañados del intervalo de confianza del 95% y de la significación estadística

Combinaciones	Riesgo relativo	IC 95%	p
2 variantes (ACE1 + AGT)	1,41	1,04—1,92	0,028
3 variantes (ACE1 + AGT + ACE2 rs4646124)	1,46	1,16—1,84	0,0014
4 variantes (ACE1 + AGT + ACE2 rs4646124 + AGTR1)	1,42	1,15—1,77	0,0009

Se muestra únicamente la mejor de las combinaciones para cada número de variantes. La combinación de 5 variantes no mejoró el modelo con 4 variantes.

una realidad para la mayoría de autores. Se basan en estudios epidemiológicos que, por un lado, confirman que únicamente el 35% de pacientes diabéticos tipo 2 desarrollan nefropatía[14], y por otro, demuestran agrupación familiar de los pacientes que sufren dicha complicación secundaria[6,15].

El estudio de distintos genes pertenecientes a una misma vía metabólica minimiza el riesgo de obtener falsos positivos, confiere plausibilidad biológica a los resultados y permite el estudio de posibles asociaciones entre ellos. El RAS constituye un mecanismo muy importante en la patogénesis de la nefropatía del paciente diabético[16,17]. El RAS es el regulador mejor conocido de la tensión arterial y determina los órganos diana que se lesionan por causa de la hipertensión. La producción local —en las células renales— de angiotensina II incrementa la presión intraglomerular mediante la constricción de las arteriolas eferentes y, por tanto, contribuye al desarrollo y progresión de la glomeruloesclerosis observada en la enfermedad. La angiotensina 1-7, un heptapéptido descubierto recientemente, derivado de la angiotensina II por la acción de la enzima convertidora de angiotensina I de tipo 2, bloquea la acción vasoconstrictora, especialmente en situaciones de sobreactividad del RAS, dando lugar a una vasodilatación renal y aumentando enormemente la complejidad e interés de este sistema.

En el presente trabajo hemos examinado el efecto de 6 variantes de genes pertenecientes al RAS sobre la mortalidad de los pacientes diabéticos tipo 2 en tratamiento con diálisis: I/D de la ACE1, p.M235T del AGT, g.1166A>C del AGTR1 y tres polimorfismos de la ACE2: rs4646124, rs2285666 y rs879922. El efecto de dichas variantes se ha estudiado de forma individual y también combinada.

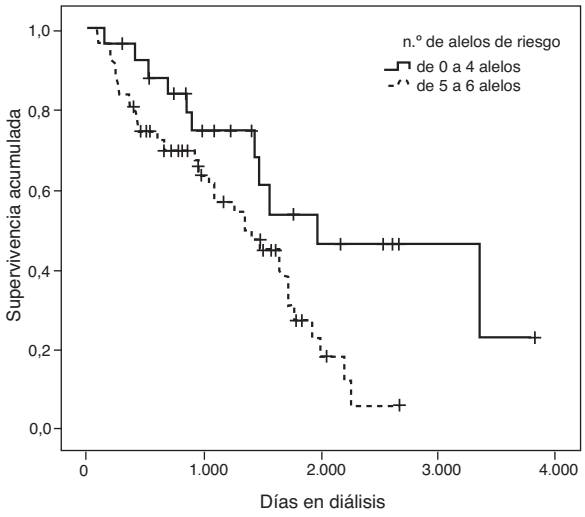

Figura 7 Curva de supervivencia de Kaplan-Meier (p = 0,018) que compara los pacientes que tienen hasta 4 alelos de riesgo con los que tienen de 5 a 8 alelos de riesgo para la combinación de las cuatro variantes: ACE1, AGT, AGTR1 y rs4646124 del ACE2.

Existen muy pocos artículos que exploren el papel de estas variantes en la mortalidad en diálisis. La más ampliamente estudiada es la variante I/D del gen ACE1. El alelo D se ha relacionado con la mortalidad de origen cardiovascular en distintos metaanálisis; concretamente, la presencia de este alelo se ha asociado con un incremento de ateroesclerosis y de las complicaciones microvasculares renales, así como enfermedad coronaria, infarto de miocardio, ictus y nefropatía diabética[18]. Hadjadj et al han corroborado estos hallazgos mediante un estudio con 3.126 pacientes diabéticos de tipo 2 que les ha permitido relacionar el alelo D con una mayor probabilidad de muerte de origen cardíaco[19]. Sin embargo, estos resultados fueron cuestionados posteriormente en otro metaanálisis con población blanca[20].

Los estudios que añaden el factor 'diálisis' presentan también cierta controversia: Higashiuesato et al evaluaron el riesgo relativo de muerte en 727 pacientes hemodializados de origen nipón, y concluyeron que la variante I/D no predice la supervivencia a corto término[21]. Contrariamente, Yoshida et al[9], en un estudio con 168 pacientes, concluyeron que el genotipo DD incrementa el riesgo de morir una vez la diálisis ya ha sido iniciada. Este mismo estudio no pudo demostrar la existencia de relación entre la mortalidad en diálisis y las variantes p.M235T del AGT y g.1166A>C del AGTR1. Coincidiendo con este último autor se ha publicado que la mortalidad de los pacientes diabéticos con genotipo DD es 2,3 veces superior a los portadores del alelo I en diálisis[22]. Un riesgo similar ha sido descrito por van der Sman-de Beer et al[8].

Böger et al estudiaron la asociación de la interacción entre las variantes I/D del ACE1, p.M235T del AGT y g.1166A>C del AGTR1 y el tratamiento farmacológico con IECA o ARA-II, con la mortalidad de 445 pacientes germánicos con nefropatía diabética y hemodializados. Únicamente encontraron un incremento estadísticamente significativo del riesgo de morir en el grupo en tratamiento con ARA-II, y a su vez, homocigotos AA de la variante g.1166A>C[23].

No hay bibliografía disponible hasta el momento que explore el papel de variantes del gen ACE2 en la mortalidad de pacientes diabéticos en diálisis.

En el presente trabajo las siguientes covariables se introdujeron en los modelos de Cox: edad, sexo, comorbilidad cardiovascular, hipertensión, MDRD basal como indicador de remisión tardía al especialista, modalidad de diálisis, MDRD residual, san-hemoglobina; c. masa como marcador de anemia, srm-albúmina; c. masa como marcador del estado nutricional, san-leucocitos; c. núm. como marcador

de septicemia, srm-colesterol; c. sust. como marcador de dislipemia y Hb (san)-hemoglobina A_{1c}; fr. sust. como marcador del control glucémico[24].

En una primera aproximación se ha estudiado el efecto individual de cada variante y se ha observado que la I/D del ACE1 y el p.M235T del AGT presentan efectos significativos sobre la mortalidad. Concretamente el genotipo DD explica un aumento del riesgo de mortalidad de 3,5 (1,3 - 9,9) veces el de los pacientes II, y el genotipo MM, a su vez, explica un aumento del riesgo de mortalidad de 3,8 (1,2 - 12,4) veces el de los pacientes TT. Es de destacar que estos coeficientes de regresión están estimados con un elevado error estándar, hecho que explica por qué los intervalos de confianza están tan pobremente acotados.

Con el fin de estudiar el efecto combinado de estas variantes e intentar mejorar la estimación del riesgo, definimos una nueva variable que cuantificaba el número de ''alelos de riesgo'' que tenía cada paciente. La definición de ''alelo de riesgo'' se basó en los patrones observados en las curvas de supervivencia individuales. De esta forma clasificamos los alelos D (I/D), M (p.M235T), A (g.1166A>C), G (ACE2, rs4646124) y G (*ACE2*, rs879922) como alelos de riesgo, mientras que la variante rs2285666 del gen ACE2 quedó fuera de la clasificación. A continuación llevamos a cabo modelos multivariantes con todas las posibles combinaciones de 2, 3, 4 y 5 variantes, y escogimos el modelo de cada grupo que estimaba el riesgo de mortalidad con una mayor precisión. La variante rs879922 del gen ACE2 no mejoró ningún modelo.

El principal hallazgo de este trabajo es que hemos encontrado una relación entre el efecto combinado de las variantes estudiadas y la mortalidad en diálisis. Más concretamente, por cada alelo adicional D (I/D), M (p.M235T), A (g.1166A>C) o G (*ACE2*, rs4646124) que tiene un paciente diabético de tipo 2 el riesgo de morir en diálisis se multiplica por 1,42 (IC 95%: 1,15 - 1,77). Es importante destacar que la estimación del riesgo es mucho más precisa. Resultados similares se encontraron cuando prescindimos de la variante AGTR1.

En conclusión, nuestros datos sugieren que algunas de las variantes aquí estudiadas (I/D, p.M235T) tienen un efecto individual sobre la mortalidad en diálisis de los pacientes diabéticos tipo 2. Por otro lado, el efecto derivado de su presencia combinada con la de otras variantes, cuya influencia individual no es concluyente (g.1166A>C, rs4646124), resulta incluso más notorio, lo que sugiere la existencia de una interacción entre los efectos y pone de relieve la importancia de estudiar conjuntamente diferentes variantes en situaciones patológicas cuya base genética es compleja.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Clinical practice. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2002;346:1145—51.
2. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National kidney foundation practice guideline for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Ann Intern Med. 2003;139:137—47.
3. Ceballos M, López-Revuelta K, Saracho R, García López F, Castro P, Gutiérrez JA, et al. Informe de diálisis y trasplante correspondiente al año 2002 de la Sociedad Española de Nefrología y Registros Autonómicos. Nefrología. 2005;25:121—9.
4. Van Dijk PC, Jager KJ, De Charro F, Collart F, Cornet R, Dekker FW, et al. Renal replacement therapy in Europe: The results of a collaborative effort by the ERA-EDTA registry and six national or regional registries. Nephrol Dial Transplant. 2001;16:1120—9.
5. Marcelli D. Prognosis of Diabetic Patients on dialysis: analysis of Lombardy Registry data. Nephrol Dial Transplant. 1995;10:1895—900.
6. Satko SG, Sedor JR, Iyengar SK, Freedman BI. Familial clustering of chronic kidney disease. Semin Dial. 2007;20:229—36.
7. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. Lancet. 2000;355:253—9.
8. van der Sman-de Beer F, Verhagen C, Rombach SM, Boorsma P, van Manen JG, Korevaar JC, et al. ACE I/D polymorphism is associated with mortality in a cohort study of patients starting with dialysis. Kidney Int. 2005;68:2237—43.
9. Yoshida H, Kuriyama S, Atsumi Y, Tomonari H, Mitarai T, Hamaguchi A, et al. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus. Kidney Int. 1996;50:657—64.
10. Mizuiri S, Hemmi H, Arita M, Ohashi Y, Tanaka Y, Miyagi M, et al. Expression of ACE and ACE2 in individuals with diabetic kidney disease and healthy controls. Am J Kidney Dis. 2008;51:613—23.
11. Modification of Diet in Renal Disease Study GroupLevey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Ann Intern Med. 1999;130:461—70.
12. Padró-Miquel A, Alía-Ramos P, González-Álvarez MT, Navarro Moreno MA. Survival in type 2 diabetic patients in dialysis and the number of risk alleles in polymorphisms of the renin-angiotensin system genes. Clin Biochem. 2009;42:5—11.
13. Jacobsen P, Tarnow L, Carstensen B, Hovind P, Poirier O, Parving HH. Genetic variation in the Renin-Angiotensin system and progression of diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2003;14:2843—50.
14. Martínez Castelao A, De Alvaro F, Górriz JL. Epidemiology of diabetic nephropathy in Spain. Kidney Int Suppl. 2005;Suppl99:S20—24.
15. Tanaka N, Babozono T. Assessing genetic susceptibility to diabetic nephropathy. Nephrology (Carlton). 2005;10:S17—21.
16. Cooper ME, Bonnet F, Oldfield M, Jandeleit-Dahm K. Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. Am J Hypertens. 2001;14:475—86.
17. Leehey DJ, Singh AK, Alavi N, Singh R. Role of angiotensin II in diabetic nephropathy. Kidney Int. 2000;58 Suppl 77:S93—8.
18. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra AP, Soubrier F, et al. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular—renal risk. J Hypertens. 1997;15:1579—92.
19. Hadjadj S, Fumeron F, Roussel R, Saulnier PJ, Gallois Y, et al. Prognostic value of the insertion/deletion polymorphism of the ACE gene in type 2 diabetic subjects: results from the Non-insulin-dependent Diabetes, Hypertension, Microalbuminuria or Proteinuria, Cardiovascular Events, and Ramipril (DIABHYCAR), Diabete de type 2. Nephropathie et Genetique (DIAB2NEPHROGENE), and Survie, Diabete de type 2 et Genetique (SURDIAGENE) studies. Diabetes Care. 2008;31:1847—52.

20. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE Gene Polymorphism in Cardiovascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:484—92.
21. Higashiuesato Y, Tana T, Tozawa M, Iseki C, Iseki K, Fukiyama K, et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE) insertion/deletion polymorphism and survival in a cohort of chronic hemodialysis patients. Clin Nephrol. 2002;58:370—5.
22. Sakka Y, Babazono T, Sato A, Ujihara N, Iwamoto Y. ACE gene polymorphism, left ventricular geometry, and mortality in diabetic patients with end-stage renal disease. Diabetes Res Clin Pract. 2004;64:41—9.
23. Böger CA, Götz AK, Krüger B, Hösl M, Schmitz G, Riegger GA, et al. Effect of genetic variation on therapy with angiotensin converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers in dialysis patients. Eur J Med Res. 2005;10: 161—8.
24. KDOQI Clinical Practice Guidelines for Cardiovascular Disease in Dialysis Patients. Am J Kidney Dis. 2005;45:S1—153.