

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA

**“Relación de biomarcadores de daño renal temprano y de la
proteína GAS-1 con la Tasa de Filtración Glomerular estimada en
adultos con factores de riesgo para desarrollo de enfermedad renal
crónica en un estudio piloto”**

Tesis que presenta:
MCP Nashiely Vanessa Mendoza Santoyo

Para obtener el grado de
Maestría en Ciencias en la especialidad en Toxicología

Directores de Tesis:
Dr. Olivier Christophe Barbier
Dra. Esther López Bayghen

Comité Académico:
Dra. Luz María Del Razo Jiménez
Dra. Laura Arreola Mendoza

México, D.F, Agosto 2018

Comité tutorial

Dra. María de la Luz del Razo Jiménez
Departamento de Toxicología, Cinvestav-IPN

Dra. Laura Arreola Mendoza
Directora de Investigación
Instituto Politécnico Nacional
Secretaría de Investigación y Posgrado

Dr. Olivier Christophe Barbier
Departamento de Toxicología, Cinvestav-IPN

Dra. Esther López Bayghen Patiño
Departamento de Toxicología, Cinvestav-IPN

El presente trabajo estuvo bajo la dirección del Dr. Olivier Christophe Barbier y la Dra. Esther Ivonne López-Bayghen Patiño y se llevó a cabo en el en el Departamento de Toxicología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Zacatenco.

Este trabajo contó con apoyo económico de Conacyt (239689) otorgado al Dr. Olivier Christophe Barbier y con el apoyo económico del programa PEI-CONACyT, proyecto 231793 otorgado a la Dra. Esther Ivonne López Bayghen Patiño.

Agradecimientos

Al CINVESTAV, por otorgarme los recursos humanos y materiales para poder continuar con mi desarrollo profesional.

Al Departamento de Toxicología, por abrirme sus puertas sin discriminación.

A mis tutores:

Dra. Esther López-Bayghen Patiño, por su compromiso, disciplina, paciencia y valioso tiempo otorgado cada vez que fue solicitado; así como por las facilidades otorgadas en su laboratorio para la realización de este trabajo.

Dr. Olivier Christophe Barbier, por el apoyo brindado a pesar de las limitaciones geográficas, por el amplio conocimiento otorgado en relación con los biomarcadores de daño renal y por las facilidades otorgadas en su laboratorio para la realización de este estudio.

Al comité tutorial:

Dra. Luz María del Razo Jiménez, por su valioso apoyo académico y profesional y por su siempre pronta disposición para aclarar dudas y sugerir alternativas para el enriquecimiento de este trabajo.

Dra. Laura Arreola Mendoza, por su disposición y acertadas observaciones encaminadas al mejoramiento del trabajo de tesis.

Dra. Dealmy Delgadillo, por sus amplias aportaciones a este trabajo, y por su siempre compromiso para con sus estudiantes.

A mis maestros de estadística:

Dra. Guadalupe Aguilar Madrid, así como a todo su equipo de colaboración en el área de investigación del CMN SXXI, por el excelente apoyo brindado para el análisis estadístico de este estudio, sin el cual, difícilmente hubiera aprendido todo lo que hasta hoy sé de estadística.

A los integrantes del laboratorio 25, en especial:

QBP Juana Narváez Morales, por todo su apoyo técnico, académico y hasta moral para la culminación de este proyecto.

Al M. en C. Daniel López Ventura y al M. en C. Manolo Sibael Ortega Romero, por el apoyo técnico y por su disposición académica y técnica en el desarrollo del trabajo, así como por su amistad.

A los integrantes del laboratorio 19, en especial Dra. Leticia Ramírez Martínez, por su apoyo siempre amable y dedicado para el descubrimiento del nuevo conocimiento, gracias por su apoyo en el conocimiento de GAS-1 y a la Ing. Lucero Cervantes Pozos por ayuda editorial.

A los integrantes del laboratorio 28, en especial M. en C. Mónica Ivette Jiménez Córdova, por ser literalmente, mi primera maestra para la medición y conocimiento de los biomarcadores de daño renal, por su paciencia, por sus sugerencias, por sus aportaciones, pero, sobre todo, por transmitir todo eso de una manera tan sencilla y amable.

A Dios, por ser el máximo proveedor.

A mis amigos y maestros:

Gustavo, Felipe, Arianna, Maria de Lourdes, Nadinita y Carmina.

Índice

Agradecimientos	4
Índice de figuras	9
Índice de tablas	9
Abreviaturas	11
Resumen	12
Abstract	13
1. Introducción	14
1.1. Nefropatía	14
1.1.1. Generalidades	14
1.1.2. Etiología y Fisiopatología	14
1.1.3. Clasificación de Enfermedad Renal Crónica	15
1.1.4. Diagnóstico de Enfermedad Renal	16
1.1.5 Prevalencia e Incidencia	17
1.1.6. Factores de riesgo de enfermedad renal	19
1.2. Biomarcadores de daño renal	23
1.2.1. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)	25
1.2.5 Cistatina C	26
1.2.6 Kidney injury molecule 1 (KIM-1)	27
1.2.7 Alfa-1 Microglobulina (α -1 MG)	28
1.2.8 Growth arrest-specific protein-1 (GAS-1)	28
2. Justificación	31
3. Hipótesis	31
4. Objetivos	31
4.1. Objetivo general	31
4.2. Objetivos específicos	32
5. Métodos	32
5.1. Diseño del estudio	32
5.2. Criterios de inclusión y exclusión	32
5.3. Recolección de la información	33
5.4. Obtención de la muestra de sangre	33
5.5. Evaluación clínica de los participantes	33
5.6. Obtención de la muestra de orina	34
5.7. Análisis de química sanguínea	34
5.8. Examen General de Orina (EGO)	34
Principio	34
Procedimiento	36

5.9. Determinación de biomarcadores de daño renal en orina	36
Principio	36
5.10. Determinación de GAS-1 en orina	37
5.11. Determinación de creatinina en orina	38
Principio	38
Procedimiento	38
5.12. Normalización de biomarcadores por creatinina urinaria	38
5.13. Cálculo de la TFGe	38
5.14. Análisis estadístico	38
6. RESULTADOS	40
6.1. Características generales de la población de estudio	40
6.2. Edad	42
6.3 Glucosa sérica	42
6.4. Parámetros de función glomerular: CrS, CrU y TFGe	43
6.5. Biomarcadores de daño renal: KIM-1, Cys-C, NGAL, α-1 MG	43
6.6. GAS-1	46
6.7. Relación entre glucosa sérica, TFGe, biomarcadores urinarios de daño renal y GAS-1 en orina	46
7. DISCUSION	49
8. Limitaciones y fortalezas del estudio	53
9. CONCLUSIONES	54
10. PERSPECTIVAS	54
11. REFERENCIAS	55

Índice de figuras

Figura 1.1 Municipios que integran la Comarca Lagunera	22
Figura 3.1 Diferencias en las edades en los tres subgrupos de estudio de la población de estudio.....	42
Figura 3.2 Concentraciones de glucosa sérica en condición de ayuno en los tres grupos de la población de estudio: CTRL, DMT2 y NFD. Se muestra la media y la desviación estándar. .	43
Figura 3.3 Análisis comparativo de las concentraciones de Creatinina sérica, creatinina urinaria y de la TFGe en los 3 grupos de estudio de la población de estudio.....	44
Figura 3.4 Análisis comparativo de los marcadores de daño renal temprano y GAS-1 en la muestra de los 3 subgrupos de estudio de la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.....	45

Índice de tablas

Tabla 1.1 Diagnóstico de la enfermedad renal crónica.....	15
Tabla 1.2 Fórmulas más comunes para el cálculo de la TFGe.....	15
Tabla 1.3 Clasificación de la enfermedad renal crónica de acuerdo a las guías KDIGO	16
Tabla 1.4 Ejemplos de biomarcadores usados en la detección de la insuficiencia renal aguda	24
Tabla 1.5 Ejemplos de biomarcadores usados en la detección de la enfermedad renal crónica	25
Tabla 1.6 GAS-1: modo de acción	30
Tabla 3.1 Características clínicas, bioquímicas y concentraciones promedio de los biomarcadores de daño renal obtenidos en esta población de estudio	41
Tabla 3.2.1 Análisis de correlación entre la concentración de glucosa sérica y las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC	47
Tabla 3.2.2 Análisis de correlación de la TFGe con respecto a las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.	48
Tabla 3.2.3 Análisis de correlación entre GAS-1 y las concentraciones urinarias de los demás biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.....	48

Tabla A1.1 Análisis de correlación entre la concentración de Glucosa y las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera.....	63
Tabla A1.2 Análisis de correlación de la TFGe con respecto a las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera.....	64
Tabla A1.3 Análisis de correlación entre GAS-1 y las concentraciones urinarias de los demás biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera	64

Abreviaturas

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AKT	Proteína serina-treonina cinasa
BAD	Proteína proapoptótica
BUN	Nitrógeno ureico en sangre
CCD	<i>Charge-Coupled Device</i>
CKD-EPI	Colaboración Epidemiológica de la Enfermedad Renal Crónica
Cr	Creatinina
CrS	Creatinina Sérica
CTRL	Control
CrU	Creatinina Urinaria
Cys C	Cistatina C
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FGF	Factor de Crecimiento de Fibroblastos
GAS-1	<i>Growth Arrest-Protein 1</i>
HTA	Hipertensión Arterial
IMC	Índice de Masa Corporal
IgA	Inmunoglobulina A
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KDOQI	<i>Kidney Disease Outcomes Initiative</i>
KEEP	Programa de Educación Renal Temprana
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule-1</i>
MDRD	Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal
NFD	Nefropatía Diabética
NGAL	Lipocalina Asociada a Gelatinasa de Neutrófilos
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NPCS	Células Progenitoras de Nefronas
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
rp	Coefficiente de correlación Pearson
SC	Superficie corporal
S-PE	Streptavidina-ficoetrina
TR	Trasplante renal
T/A	Tensión arterial
TFGe	Tasa estimada de filtrado glomerular
TGO	Aminotransferasa de aspartato
TGP	Aminotransferasa de alanina
UAdeC	Universidad Autónoma de Coahuila
WT1	Tumor de Wilms 1

Resumen

La enfermedad renal crónica (ERC) en el adulto se define como la presencia de una alteración estructural o funcional renal que persiste más de tres meses, con o sin deterioro de la función renal. Los factores de riesgo para ERC son edad, sexo, bajo peso al nacer, etnia, diabetes e hipertensión. En algunas regiones del país, además la población se encuentra expuesta a otros factores de riesgo para el desarrollo de la ERC, como la exposición a metales pesados. Los actuales biomarcadores de la función renal como la microalbuminuria y la Tasa de Filtración Glomerular (TFGe, basada en los valores de CrS), no son óptimos para valorar daño renal y son afectados frecuentemente por características como sexo, edad, índice de masa corporal e infección de vías urinarias, etc. Por estas razones se han buscado nuevos biomarcadores tempranos relacionados con el daño tisular. El objetivo de este proyecto fue determinar las concentraciones urinarias de los biomarcadores de daño renal temprano KIM-1, NGAL, Cistatina C y α -1 microglobulina y de la proteína GAS-1 en muestras de pacientes con factores de riesgo para el desarrollo de la ERC. Se hizo un estudio de tipo transversal con 114 adultos de entre 43 y 69 años, originarios y residentes de la Comarca Lagunera. Se evaluaron los biomarcadores KIM-1, NGAL, Cistatina C y alfa 1 microglobulina a través de un sistema de inmunoensayo en microesferas (Luminex), así como la proteína GAS-1 a través de la técnica de ELISA, además de la cuantificación de la CrS para la estimación de la TFG y de la CrU para la normalización de los biomarcadores. Mediante un análisis de correlación, con los datos transformados a logaritmo base 10 y las concentraciones de los biomarcadores y de GAS-1 normalizados por CrU, los resultados muestran una correlación negativa débil entre éstos y la TFGe; asimismo, se encontró una correlación positiva marginal entre los biomarcadores de daño renal temprano ya conocidos y la proteína GAS-1, los cuales muestran una tendencia a incrementarse en aquellos pacientes que tienen una enfermedad renal crónica ya establecida y más avanzada. En conclusión, la proteína GAS-1 aparece posterior a la exposición a nefrotóxicos ya conocidos, se encuentra presente en la orina de sujetos con factores de riesgo para desarrollo de enfermedad renal y en aquellos participantes con una ERC ya conocida; además se correlaciona de forma marginal con los biomarcadores de daño renal ya conocidos. Se requieren más estudios de GAS-1 y los biomarcadores de daño renal temprano, así como con los biomarcadores tradicionales, para evaluar los niveles de corte y establecer su utilidad para el diagnóstico o pronóstico de la ERC.

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) in adults is defined as the presence of a structural or functional kidney alteration persisting for more than 3 months, with or without renal function impairment. Current renal function biomarkers, such as microalbuminuria and glomerular filtration rate (eGFR, based on serum creatinine –sCr- values), are not optimal to estimated kidney damage, and are frequently affected by characteristics like sex, age, body mass index or urinary tract infections, to name a few. In some regions of México, the population is exposed to other risk factors for CKD development, like heavy metals. For this reason, new early biomarkers related to tissue damage have been researched. The aim of this project was to determine urine levels of some early kidney damage biomarkers and the GAS-1 protein in specimens from people with risk factors for CKD development. We performed a transversal study with 114 adults with ages between 43 and 69 years old, born and raised in the Comarca Lagunera region. The following biomarkers were evaluated: KIM-1, NGAL, cystatine C and alpha 1 microglobulin, through a microsphere immunoassay system (Luminex Technology), and GAS-1 through ELISA, also measuring sCr for eGFR, and uCr for biomarker normalization. By means of a correlation analysis, with renal biomarkers data log transformed and GAS-1 levels normalized by uCr, our results show a weak negative correlation between them and eGFR; moreover, we found a marginal positive correlation between known early kidney damage biomarkers and the GAS-1 protein, which show a tendency to increase in those participants having an established and more advanced chronic kidney disease. In conclusion, this new protein, GAS-1, appearing after being exposed to known nephrotoxics and thus being able to demonstrate its utility in case of chronic or acute kidney damage, is present in the urine of people with risk factors for the development of kidney disease and it is marginally correlated to known kidney damage biomarkers. More studies are suggested analyzing GAS-1 and early kidney damage biomarkers, as well as traditional biomarkers, to evaluate cutoff levels and to establish its utility for diagnosis or prognosis of CKD.

1. Introducción

1.1. Nefropatía

1.1.1. Generalidades

Los riñones desempeñan importantes funciones en el organismo como: filtrar la sangre y eliminar productos de desecho del metabolismo, mantener el equilibrio hidroelectrolítico y ácido-base; secretar hormonas como renina y eritropoyetina; la síntesis de la forma activa de la vitamina D para regular el metabolismo del fósforo y el calcio. La unidad funcional del riñón es la nefrona, la cual está formada por un glomérulo y un túbulo. El primero es un conjunto de capilares sanguíneos a través del cual se filtran más de 150 L de sangre/día; los túbulos, que se dividen en tres regiones: túbulo contorneado proximal (región que filtra y reabsorbe componentes de la sangre que pasan a través del riñón); asa de Henle (porción descendente, que es muy permeable a la absorción del agua; y porción ascendente, muy permeable a los iones e impermeable al agua) y el túbulo contorneado distal (que posee la mácula densa, donde se estimula producción de renina con la finalidad de secretar aldosterona para aumentar la absorción de sodio y agua). En los túbulos se reabsorbe agua y sustancias químicas útiles como aminoácidos y iones, concentrándose las sustancias de desecho y el exceso de agua, terminándose por excretar de 1 a 2 L de orina al día. También producen y secretan sustancias como eritropoyetina, renina y prostaglandinas (Dehesa-López et al., 2009).

1.1.2. Etiología y Fisiopatología

Las causas de la enfermedad renal crónica (ERC) se pueden dividir en enfermedades vasculares, enfermedades glomerulares, túbulo intersticiales y uropatías obstructivas. En nuestro país la etiología más frecuente es la DMT2, que es responsable del 50% de los casos de ERC de acuerdo a lo reportado por el *United States Renal Data System* en 2007 (USRDR, 2007) en segundo lugar la HTA y finalmente las glomerulonefritis.

En el 2002 cuando la *National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Initiative* (KDOQI, 2002; Patel and Singh, 2009) publicó una serie de lineamientos que rigen las prácticas clínicas para el cuidado de pacientes con enfermedad renal. Por primera vez éstas incluían una definición operativa de la enfermedad renal, sin tomar en cuenta la etiología de la enfermedad renal, pero si basándose en la presencia de daño renal o una tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) menor a 60 mL/min/1.73m² de superficie corporal (SC) durante más de 3 meses (tabla 1.1). De igual manera, se propuso un sistema de clasificación de 5 categorías, determinado por el nivel de función renal basado en la TFGe (Levey et al., 2002).

Tabla 1.1 Diagnóstico de la enfermedad renal crónica

Definición de Enfermedad Renal Crónica (KDIGO)
<ol style="list-style-type: none">1. Daño renal >3 meses, definido como alteraciones renales funcionales o estructurales, con o sin limitación en la TFGe, que pueden llevar a una disminución de la TFGe, manifestado por cualquiera de los siguientes síntomas:<ul style="list-style-type: none">• Anormalidades por patología renal• Marcadores de daño renal, incluyendo anormalidades en la composición de la sangre u orina o anormalidades en los estudios de imagen renal2. TFGe < 60 mL/min/1.73m²SC por > 3 meses, con o sin daño renal
KDIGO= Kidney Disease Improving Global Outcomes; TFGe= Tasa de filtración glomerular estimada; SC= Superficie corporal (KDOQI, 2002)

1.1.3. Clasificación de Enfermedad Renal Crónica

La TFGe es uno de los métodos más usados para calcular la función renal y consiste en medir la depuración renal de una sustancia (Israni, 2007). Las guías *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (Levey et al., 2005) recomiendan la estimación de la TFG a través de las fórmulas MDRD (*Modified Diet in Renal Disease*) o de las fórmulas de Cockcroft-Gault (tabla 1.2).

Tabla 1.2 Fórmulas más comunes para el cálculo de la TFGe

MDRD simplificado (4 variables) $186 \times \text{CrS} \times \text{edad} \times (0.742 \text{ si es mujer}) \times (1.21 \text{ si es de raza negra})$
MDRD (6 variables) $170 * \text{CrS} \times \text{edad} \times \text{nitrógeno ureico en sangre (BUN)} \times \text{albumina} \times (0.762 \text{ si es mujer}) \times (1.18 \text{ si es de raza negra})$
Cockcroft- Gault $((140 - \text{edad}) \times \text{peso (kg)} / 72 \times \text{CrS}) \times (0.85 \text{ si es mujer})$
Aclaramiento de Creatinina (orina 24 hrs) $(\text{CrU (mg/dL)} \times \text{volumen orina (mL/ min)}) / \text{CrS (mg/dL)}$

La ERC se define como la disminución de la función renal, expresada por una TFGe <60mL/min/1.73m² o como la presencia de daño renal durante más de 3 meses, manifestada de forma directa a través de una biopsia renal, o de forma indirecta por marcadores de daño

renal como albuminuria, proteinuria, alteraciones en el sedimento urinario o alteraciones en las pruebas de imagen (Cabrera, 2004; Eknoyan, 2007; Levey et al., 2005).

Este umbral de 60 mL/min/1.73m² fue elegido para diagnosticar ERC porque se encuentra por encima del nivel asociado con falla renal (TFGe <15 mL/min/1.73m²) lo que permite llevar a cabo medidas preventivas que eviten o retrasen la falla renal. Por otro lado, éste es un nivel que está por debajo de la TFGe que tiene el 50% de la población adulta (tabla 1.3).

Tabla 1.3 Clasificación de la enfermedad renal crónica de acuerdo a las guías KDIGO

CLASIFICACION DE LA ENFERMEDAD RENAL CRONICA (KDIGO)			
Estadio	Descripción	TFGe (mL/min/1.73m ²)	Tratamiento
1	Daño renal con TFGe normal o elevada.	>90	TR
2	Daño renal con disminución leve de la TFGe.	60-89	TR
3	Disminución moderada de la TFGe.	30-59	TR
4	Disminución grave de la TFGe.	15-29	TR
5	Falla renal.	<15	TD

TFGe= Tasa de filtrado glomerular estimada mediante fórmula; TR=Trasplante renal; TD= Tratamiento dialítico; KDIGO= *Kidney Disease Improving Global Outcome* (KDOQI, 2002).

1.1.4. Diagnóstico de Enfermedad Renal

En la nomenclatura nefrológica actual, el término de insuficiencia renal crónica ha quedado en desuso, siendo reemplazado por el de enfermedad renal crónica; desde febrero del 2002, de acuerdo con las guías de K/DOQI, fue definida como “daño renal de una duración igual o mayor a tres meses, caracterizado por anomalías estructurales o funcionales con o sin descenso de la tasa de filtración glomerular a menos de 60ml/min/1.73m². Hay cinco etapas en la evolución de la enfermedad crónica renal, las cuales se basan en la presencia de daño estructural y/o la disminución de la tasa de filtración glomerular (TFGe).

El daño renal puede ser diagnosticado directamente al ver alteraciones histológicas en la biopsia renal o indirectamente a través de albuminuria o proteinuria, al detectar alteraciones del sedimento urinario o alteraciones en las pruebas de imagen. Como la TFGe disminuye con la edad, la prevalencia de la ERC aumenta con la misma y se estima en aproximadamente el

17% de la población mayor de 60 años con una TFGe menor a 60 mL/min/1.73m² (USRD, 2007).

La guía K/DOQI recomienda la estimación de la TFGe como el mejor método para determinar la función renal. La TFGe refleja la depuración renal de una sustancia, es decir, el volumen de plasma del que puede ser completamente eliminada una sustancia por unidad de tiempo (Collins et al., 2007). La sola presencia de una TFGe <60 ml/min/1,73 m² por sí sola define ERC, porque implica la pérdida de al menos la mitad de la función renal, lo que ya se asocia a complicaciones. El valor normal de la TFGe en adultos jóvenes es de 120-130 mL/min/1.73m², el cual disminuye con la edad. Una TFGe menor de 60 mL/min/1.73m² representa la pérdida de más del 50% de la función renal normal en adultos, y por debajo de éste la prevalencia de las complicaciones propias de la ERC aumentan (Cabrera, 2004; Levey et al., 2005).

De esta manera, si la TFGe es mayor o igual a 60 mL/min/1.73m², el diagnóstico de ERC se establece mediante evidencias de daño renal, que pueden comprender:

Alteraciones urinarias (albuminuria, micro-hematuria)

Anormalidades estructurales (por ejemplo imágenes renales anormales).

Enfermedad renal genética (riñones poliquísticos).

Enfermedad renal probada histológicamente.

El requerimiento de un período mínimo de tres meses en la definición de ERC implica que las alteraciones deben ser persistentes y progresivas.

En relación con los marcadores de daño renal, se recomienda la cuantificación de la excreción urinaria de albúmina, y puede presentarse secundaria a DMT2, nefrosclerosis hipertensiva, en enfermedades túbulo intersticiales, enfermedad renal poliquística y en enfermedades del riñón trasplantado. El método recomendado para su medición es el cociente albúmina (mg)/creatinina (g) en una muestra aislada de orina con un umbral de 30mg/gCr (mujeres 25mg/gCr y hombres 17 mg/gCr) como marcador de daño renal. Las razones para usar este umbral son: a) se encuentra 2-3 veces por arriba del valor de excreción normal de albúmina; b) las concentraciones por arriba de 30mg/gCr son poco frecuentes en hombres y mujeres sanos de 40 años; c) las concentraciones mayores a este umbral representan marcadores tempranos de daño renal por DMT2, HTA y enfermedades glomerulares.

1.1.5 Prevalencia e Incidencia

Desde el año 2005, los nuevos criterios de la ERC fueron aplicados a la base de datos de la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III), que reportó 8 millones

de personas con una TFG_e <60 mL/min/1.73m² en EUA y 12 millones con evidencia de microalbuminuria. Así mismo, se documentó un incremento del 40% en la prevalencia de ERC, principalmente por un incremento en los estadios 3-5 de la ERC, afectando al 13.5 y 15.8% de la población general, lo que también ha sido reportado en Europa, Asia y Australia (Cabrera, 2004).

En México, uno de los estudios de referencia corresponde al estudio transversal en una población de 3564 sujetos, de ambos géneros, con una edad de >18 años, afiliados al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de la ciudad de Morelia, Michoacán. La prevalencia de una TFG_e <15 mL/min/1.73m² fue de 1,142 por millón de habitantes (0.11%), en tanto que la prevalencia de una TFG_e <60 mL/min/1.73m² fue de 80,788 por millón de habitantes (8.07%) lo que comprueba una elevada prevalencia de la ERC en nuestro país, al igual que en el resto del mundo (Amato et al., 2005).

En México la principal causa de ERC es la DMT2, que afecta 6.4 millones de adultos mexicanos, seguida de la HTA, que afecta 22.4 millones de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2012). Dado que en México no se tiene un registro nacional de enfermos renales, se desconoce la prevalencia de pacientes en terapia de reemplazo renal; sin embargo, algunas estadísticas de la población derechohabiente del IMSS indican una prevalencia de ERC en adultos superior a 1000 por millón de derechohabientes (Amato et al., 2005).

En el estudio de educación renal elaborado por el Programa de Detección Renal de enfermedad Renal, KEEP por sus siglas en inglés (KEEP, 2008), se encontró una prevalencia de ERC del 22% en la Ciudad de México y un 33% en Jalisco; estas prevalencias no son significativamente diferentes a lo reportado en los registros de pacientes con ERC en Estados Unidos -26%- (Obrador et al., 2010). En el año 2013 se encontró una prevalencia del 31.3% de ERC en 9169 participantes de poblaciones de alto riesgo para desarrollo de ERC en comunidades urbanas y rurales en el estado de Jalisco (García-García et al., 2013). En este mismo estudio (KEEP) se informó que el porcentaje de ERC fue de 14.7% y ninguno de los sujetos sabía que padecía ERC (Cueto-Manzano et al., 2014).

A pesar de que en México no existe un registro nacional de pacientes con enfermedad renal crónica avanzada, el cual permitiría no sólo conocer el número de pacientes que la padece, sino además estimar la sobrevida de éstos, si se han realizado varios esfuerzos para estimar estos parámetros. Existen dos estudios: uno realizado en la población derechohabiente del IMSS en el 2007, que reporta una prevalencia de ERC avanzada en adultos mayor a 1000 por millón de habitantes; y el segundo, que utiliza el registro de diálisis

y trasplante de Jalisco, que reportó para el año 2007 una prevalencia de ERC avanzada de 986 casos por millón de habitantes. De esta manera, podemos inferir que para el 2009, en México podrían existir entre 98,600 y 136,500 pacientes con ERC avanzada, siendo ésta última la más cercana a las cifras encontradas en la población de ascendencia mexicana en Estados Unidos, de acuerdo al Sistema de Datos Renales (USRD, 2007).

En el año 2009, un grupo de investigadores mexicanos, realiza estimaciones epidemiológicas de la ERC mediante el uso de un modelo matemático (Barendregt et al., 2003) a través del programa DISMOD II, el cual permite la obtención de las tasas de prevalencia y mortalidad de un determinado problema de salud, en este caso la ERC en etapa avanzada, al suministrársele valores de incidencia, letalidad y remisión. Los insumos para el modelo, se toman de estudios epidemiológicos, en datos secundarios y en opiniones de expertos. López-Cervantes et al., realizaron en 2009 una estimación de la tasa de incidencia para toda la población mexicana con ERC en estado avanzado (López-Cervantes et al., 2009), usando como referencias dos estudios: Amato et al., en 2005 y el de García-García et al., en 2007 (Amato et al., 2005; García-García et al., 2013), obteniendo a través del programa DISMOD, una incidencia de ERC avanzada de alrededor de 4 por millón, y una tasa de prevalencia de cerca de 1 por millón de habitantes durante el 2005.

La información proporcionada por estos dos estudios permitió establecer una incidencia de 4 por millón, una de mortalidad de aproximadamente 29% y una de prevalencia de cerca de 1 por millón.

1.1.6. Factores de riesgo de enfermedad renal

Existen factores de riesgo de inicio y factores de riesgo de progresión de la ERC. Los factores característicos iniciadores son:

- Edad avanzada (edad >60 años): es un factor de riesgo de ERC, pero no un factor de progresión en sí mismo, más allá del deterioro funcional natural asociado a la edad (“riñón del viejo”).
- DMT2: Es un potente factor iniciador, de hecho, es la causa más frecuente de ERC avanzada.
- HTA así como enfermedad cardiovascular o antecedentes familiares de enfermedad renal que junto con la proteinuria son los dos factores de riesgo de progresión modificables mejor documentados.

- Sexo masculino: descrito en estudios poblacionales como factor pronóstico independiente de padecer ERC. No está claro como factor de progresión.
- Raza negra o afroamericanos: en EEUU está demostrada una mayor incidencia en diálisis en la población afroamericana. Esta circunstancia debe atribuirse, principalmente, a la mayor prevalencia de HTA severa, peores circunstancias socioculturales y posibles factores genéticos.
- Nacimiento con bajo peso: asociado a un reducido número de nefronas y al desarrollo posterior de la ERC. De hecho, la pérdida adquirida de masa renal, experimental o clínica se asocia a hipertensión glomerular e hiperfiltración.
- Privación sociocultural: los estudios epidemiológicos demuestran claramente que el bajo nivel social, cultural y económico se asocian a peor salud. La enfermedad renal no escapa a estas circunstancias.
- Exposición a metales pesados: Los contaminantes ambientales más comunes como el cadmio, plomo y mercurio inducen la ERC, ya que los riñones tienen la capacidad de reabsorber y acumular metales divalentes, sin embargo, los mecanismos moleculares a través de los cuales lo realizan están aún siendo estudiados (Madden and Fowler, 2000). La importancia del daño renal ocasionada por estos compuestos depende de: la naturaleza del metal no esencial, de la dosis, de la vía y del tiempo de exposición (Barbier, 2009). Numerosas vías están involucradas en el transporte de los metales pesados en el epitelio renal dependiendo de la forma del metal (libre o conjugado) y del segmento de la nefrona donde ocurra la reabsorción (túbulo proximal, asa de Henle, túbulo distal y segmentos terminales). La nefrotoxicidad por dichos metales está dada por el hecho de que la eliminación urinaria es la principal ruta de excreción, y los túbulos proximales son especialmente sensibles debido a su alta actividad de reabsorción de estos metales.

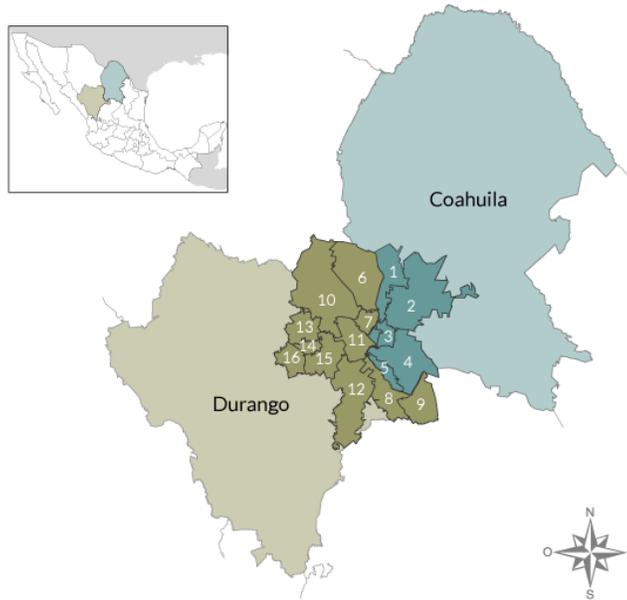
En personas expuestas puede existir una elevada concentración de metales pesados al interior de las células del túbulo contorneado proximal. Cadmio, mercurio, plomo, cromo, y platino constituyen un riesgo laboral y ambiental importante. Porque el riñón re-absorbe y acumula metales divalentes, es el primer órgano blanco de esta toxicidad por metales. La extensión del daño renal por metales pesados depende de la naturaleza de éstos, la dosis, la ruta de

exposición. Tanto en la exposición que se da de manera crónica como de manera aguda, se ha demostrado que causan nefropatías. Adicionalmente hay varias rutas involucradas en la incorporación de los metales pesados por el epitelio renal, dependiendo de su forma y del segmento de la nefrona donde ocurre la reabsorción (Kasiske, 2007).

La contaminación por metales pesados puede ser geogénica o antropogénica. Actualmente, la exposición a elementos metálicos se produce de forma específica en la actividad laboral, además, la población entra en contacto con ellos a través del agua, los alimentos y el ambiente, donde su presencia se ha incrementado por la intervención de la actividad industrial humana sobre los ciclos hidrogeológicos. Un gran número de actividades industriales requieren la manipulación de metales; entre ellas la minería y las industrias de transformación, fundiciones y metalúrgica. Actividades específicas producen riesgos mayores frente a determinados elementos, como el plomo en las empresas de baterías, o el mercurio en operaciones de electrólisis. Los trabajadores dentales están expuestos a berilio, mercurio y níquel. De igual manera, encontramos elementos metálicos en el agua y en los alimentos. Antaño, era clásica la presencia de plomo en el agua de las tuberías o en los granos, o la presencia de mercurio empleado como fungicida en el tratamiento del grano, en la enfermedad de Minamata. Otro ejemplo fue la epidemia de arsenicosis por consumo de agua de pozo con concentraciones altas de arsénico en países asiáticos. Otra fuente de exposición es la atmósfera potencialmente contaminada por diversos metales en forma de polvos, humos o aerosoles, de origen industrial procedentes de combustibles fósiles.

En el caso de Torreón, Coahuila, uno de los municipios que integran la región conocida como la Comarca Lagunera (figura 1.1), se cree que el problema de la contaminación por metales pesados y sus efectos en la salud tuvo su origen con el funcionamiento en el centro de la ciudad de Torreón, del cuarto complejo fundidor más grande del mundo propiedad de la compañía Met-Mex Peñoles (Valdés Perezgasga, 1999).

Mapa de la Comarca Lagunera



Comarca Lagunera de Coahuila	Comarca Lagunera de Durango	
1. Francisco I. Madero	6. Tlahualilo	12. Cuencamé
2. San Pedro	7. Gómez Palacio	13. San Pedro del Gallo
3. Matamoros	8. Gral. Simón Bolívar	14. San Luis del Cordero
4. Viesca	9. San Juan de Guadalupe	15. Nazas
5. Torreón	10. Mapimí	16. Rodeo
	11. Lerdo	

Figura 1.1 Municipios que integran la Comarca Lagunera

1.2. Biomarcadores de daño renal

El grupo de trabajo sobre Biomarcadores de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (*Biomarkers Working Group - National Institutes of Health - NIH*), ha definido un marcador biológico como “una característica que es objetivamente medida y evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas hacia una intervención terapéutica” (Naicker, 2011). Dentro de las características deseables de los biomarcadores de daño renal se encuentran: a) deben ser no invasivos y fáciles de realizar a la cabecera del paciente o en un laboratorio clínico estándar usando muestras fácilmente accesibles tales como sangre u orina, b) deben ser rápidamente y razonablemente medibles usando una plataforma de ensayo estandarizada, c) deben ser altamente sensibles para facilitar la detección temprana y con un amplio rango dinámico y valores de corte que sigan para el riesgo de estratificación, d) deben ser altamente específicos para daño renal agudo y capaces de identificar los diferentes subtipos y etiologías de daño renal y e) deben exhibir propiedades de biomarcador fuerte sobre las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (Nguyen and Devarajan, 2008).

Algunos biomarcadores también son necesarios: para discernir entre los diferentes tipos de daño renal agudo (pre-renal, intrínseco o post-renal), para identificar la etiología del daño renal agudo (isquémico, toxinas, sepsis o una combinación), para diferenciar el daño renal agudo de otras formas de enfermedad renal aguda (infección del tracto urinario, glomerulonefritis, nefritis intersticial), para predecir la severidad del daño renal agudo o crónico (estratificación del riesgo para pronóstico como una guía terapéutica), para monitorear la evolución del daño renal agudo y crónico, así como para evaluar la respuesta al daño renal agudo después de las intervenciones terapéuticas (ver tablas 1.4 y 1.5).

Tabla 1.4 Ejemplos de biomarcadores usados en la detección de la insuficiencia renal aguda

Tomado de (Nickolas et al., 2008)

Enzima	Abrev.	Fuente	Acción fisiológica
Enzimas tubulares liberadas en la orina			
Alfa Glutation S transferasa	α GST	Expresada en la mayoría de los tejidos renales: células del túbulo proximal	Liberadas desde los lisosomas, del borde en cepillo y citoplasma de las células epiteliales del túbulo proximal
Pi Glutation S Transferasa	π GST	Idem: células del túbulo distal	
N-Acetil beta glucosaminidasa	NA β G	Muchos tejidos: hígado, cerebro, bazo, etc. En riñón: células del túbulo proximal	
Marcadores inflamatorios urinarios			
Interleucina 18	IL-18	Monocitos, células dendríticas, macrófagos y células epiteliales	Filtradas libremente por el glomérulo, reabsorbidas, no secretadas
Interleucina 1, 6 y 8	IL-1, -6, -8		
Proteínas de bajo peso molecular			
Cistatina C urinaria	Cistatina C	Todas las células nucleadas	Filtradas libremente por el glomérulo, reabsorbidas, no secretadas
Factor de crecimiento del hepatocito	HGF	Células mesenquimales	
Alfa 1 microglobulina	α 1MG	Hígado	
Beta 2 microglobulina	β 2MG	Todas las células nucleadas	
Proteínas del túbulo proximal			
<i>Kidney injury molecule 1</i>	KIM-1	Riñón: células del túbulo proximal.	Sobrerreguladas por las células epiteliales del túbulo proximal
Lipocalina de Neutrófilo asociada a gelatinasa	NGAL	Leucocitos, asa de Henle y túbulos colectores	
Cistatina C urinaria	Cistatina C	Todas las células nucleadas	
Proteína tipo hepática ligada a ácidos grasos	L-FABP	Hepatocitos, riñón: células del túbulo proximal	
Proteínas de paro del ciclo celular			
Proteína 7 ligada a factor de crecimiento similar a la insulina	IGFBP7	Expresada en la mayoría de las células epiteliales.	Células tubulares renales que entran a un período corto de paro G1 del ciclo celular seguida por insuficiencia renal aguda
Tejido inhibidor de metaloproteinasas-2	TIMP-2	Riñón: células epiteliales tubulares	

Tabla 1.5 Ejemplos de biomarcadores usados en la detección de la enfermedad renal crónica

Tomado de (Nickolas et al., 2008)

Enzima	Abreviación	Fuente	Acción fisiológica	
Aminoácidos				
Dimetil arginina asimétrica en plasma	ADMA	Células endoteliales	Aclaramiento dañado o producción incrementada en ERC	
Proteínas.				
Factor 23 de crecimiento de fibroblastos	FGF-23	Osteoblastos		
Quimocinas				
Proteína-1 quimioatrayente de monocitos	MCP-1	Todas las células nucleadas, células renales		
Marcadores celulares de daño tubular				
Lipocalina de Neutrófilo asociada a gelatinasa	NGAL	Leucocitos, asa de Henle y conductos colectores	Liberadas de los lisosomas, borde en cepillo y citoplasma de las células epiteliales del túbulo proximal	
Cistatina C urinaria	Cistatina C	Todas las células nucleadas		
Proteína tipo hepática ligada a ácidos grasos	L-FABP	Hepatocitos, riñón: células del túbulo proximal		
Marcadores urinarios de fibrosis				
Factor de crecimiento del tejido conectivo	CTGF	Todos los tejidos	Producción excesiva de factores de crecimiento profibróticos y de matriz extracelular	
Factor beta-1 de crecimiento transformante	TGF-B1	Todos los tejidos		
Colágeno IV	COL IV	Riñón, ojo, piel		
Marcadores de daño celular glomerular				
Cistatina C plasmática.	Cistatina C	Todas las células nucleadas	TFG Dañada.	
Podocalixina	PCX	Podocitos	Defecto en la estructura del podocito	
Nefrina	Nep	<i>Idem</i>		

1.2.1. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)

NGAL es una proteína de 25 kDa, normalmente expresada a bajas concentraciones en muchos tejidos humanos, incluyendo el riñón, pulmones, estómago y el colon. La expresión

de NGAL es inducida en el epitelio dañado (Parikh et al., 2004). NGAL fue recientemente identificada mediante análisis de microarreglos, como una de las moléculas más temprana y fuertemente inducida por genes y proteínas en el riñón después de un daño isquémico o nefrotóxico en modelos animales, y fue fácilmente detectada en la sangre y la orina justo después del daño renal agudo (Ahlstrom et al., 2004; Herget-Rosenthal et al., 2004b; Parikh et al., 2005). La concentración de NGAL en plasma y orina correlaciona con las concentraciones de CrS y es considerado un biomarcador sensible, específico y altamente predictivo de daño renal agudo después de cirugía cardíaca en niños (Han et al., 2002). La concentración urinaria de NGAL también permitió predecir la severidad del daño renal y los requerimientos de diálisis en un estudio multicéntrico de niños con síndrome urémico hemolítico asociado a diarrea (Gilbertson et al., 2005).

Las mediciones de NGAL en plasma se pueden ver influenciadas por un número de variables coexistentes como la ERC, la HTA, infecciones sistémicas y en condiciones inflamatorias (Parikh et al., 2016). NGAL urinaria está también emergiendo como un marcador de la ERC y su severidad. La NGAL urinaria puede también funcionar como un biomarcador temprano de la disminución de la función renal en enfermos crónicos con nefropatía IgA y nefritis lúpica, y puede verse incrementada en infecciones del tracto urinario; pero los concentraciones de NGAL urinario en estas condiciones son significativamente menores, comparados con los concentraciones en que se presenta en pacientes con insuficiencia renal aguda verdadera (Parikh et al., 2016).

1.2.5 Cistatina C

La Cys-C es una proteína de 13 kDa, un inhibidor de cisteína proteasa que es sintetizada y liberada, en una tasa constante por todas las células nucleadas. Como las concentraciones en sangre de Cys-C no son significativamente afectados por la edad, género, raza o masa muscular, son mejores predictores de la función glomerular que los de CrS en pacientes con ERC (Bolignano et al., 2007).

La Cistatina C es libremente filtrada por el glomérulo, completamente reabsorbida por el túbulo proximal y no secretada (Nickolas et al., 2008). Es considerada para ser un mejor y más temprano marcador de disfunción renal temprana y un marcador más confiable de la función renal que la CrS sola (Dharnidharka et al., 2002).

La excreción urinaria de Cys-C ha mostrado ser predictor para requerimiento de terapia de trasplante renal con una insuficiencia renal aguda establecida de alrededor de un día, con un área bajo la curva de 0.75 (Herget-Rosenthal et al., 2004a).

Los investigadores de CKD-EPI desarrollaron 3 fórmulas para la TFGe para Cys-C: usando Cistatina C sola, Cistatina C con factores demográficos, y Cistatina C más CrS más factores demográficos. La ecuación que incluyó coeficientes de Cistatina C con CrS y factores demográficos proveyó las estimaciones más precisas de la TFGe (Stevens et al., 2008).

Inker y colaboradores establecieron una referencia estándar para Cistatina C para desarrollar una ecuación de TGe basada en 5352 personas de 13 cohortes. Después, las ecuaciones fueron validadas en 1119 participantes de 5 estudios diferentes. Finalmente, dos nuevas ecuaciones, que incluyeron sólo Cys-C y en combinación con CrS, fueron desarrolladas. La ecuación que combinó Cys-C más CrS resultó ser la más óptima para la TFGe (Inker et al., 2012).

1.2.6 Kidney injury molecule 1 (KIM-1)

Es una glicoproteína transmembranal que fue descubierta en un esfuerzo para identificar moléculas que eran significativamente sub-reguladas después de un daño renal agudo isquémico (Ichimura et al., 1998). KIM-1 está altamente sobre-expresada en las células diferenciadas del túbulo proximal después del daño renal agudo por isquemia o nefrotóxico en modelos animales (Han et al., 2002; Ichimura et al., 1998).

En un pequeño estudio transversal en humanos, se encontró que KIM-1 está marcadamente inducida en los túbulos proximales en biopsias de riñón de pacientes con lesión renal aguda establecida -principalmente isquémica (Han et al., 2002). Una ventaja de KIM-1 sobre NGAL es que ésta parece ser más específica de daño renal isquémico o nefrotóxico y no está significativamente afectada por ERC o infecciones del tracto urinario (Han et al., 2002).

En pacientes hospitalizados y que previamente contaban con diagnóstico de lesión renal aguda, los concentraciones urinarios de KIM-1 predijeron resultados clínicos adversos tales como requerimiento de diálisis y mortalidad (Liangos et al., 2007) KIM-1 es también un excelente biomarcador de nefrotoxicidad en estudios preclínicos (Vaidya et al., 2010).

Se ha encontrado también el aumento de la concentración urinaria de KIM-1 en la ERC de etiología diversa (Van Timmeren et al., 2007). De acuerdo a los resultados de algunos estudios de cohorte basados en poblaciones, las altas concentraciones urinarias de KIM-1 urinaria están asociados alto riesgo de mortalidad cardiovascular, resistencia a la insulina, incidencia de la ERC y falla cardíaca congestiva (Carlsson et al., 2014; Carlsson et al., 2013).

La concentración urinaria de KIM-1 de humanos saludables es menor a 1 ng/mL. La concentración de KIM-1 aumenta tempranamente, a las 6 h después de una lesión isquémica y permanece elevada por un período de 48 h post-daño (Slocum et al., 2012).

1.2.7 Alfa-1 Microglobulina (α -1 MG)

Es una proteína glicosilada con un peso molecular estimado entre 26 y 33 kDa de acuerdo con el tipo de medición; contiene 167 aminoácidos. Fue aislada en 1975 y ha sido designada con otros nombres como proteína HC y alfa 1-micoglicoproteína. Es filtrada a través del glomérulo y reabsorbida en el túbulo proximal, donde es catabolizada. Los intervalos normales que fueron establecidos para α -1 MG en sujetos sanos en suero es de 20-42 mg/L y en orina 3.5-8ng/L (Weber et al., 1985). La concentración urinaria de α -1 MG es un sensible indicador de función tubular renal dañada (Kusano et al., 1985).

Probablemente el hígado es el principal sitio de su síntesis. Aparte de la enfermedad hepática severa en donde α -1 MG puede encontrarse baja, y en falla renal donde los concentraciones se encuentran incrementados, las concentraciones de α -1 MG experimentan pequeños cambios en varias enfermedades como inflamatorias y neoplásicas (Kawai and Takagi, 1982).

Los concentraciones de α -1 MG se encuentran incrementados en las siguientes condiciones: función tubular dañada, intoxicación por metales pesados, nefropatía balcánica, posterior a un cólico renal y obstrucción ureteral crónica, en diferentes grados de reflujo ureteral, en la medición de complianza y presión del detrusor, en nefropatía diabética y en casos donde la TFGe está disminuida (Penders and Delanghe, 2004).

Adicionalmente a la albuminuria (la cual mide la disfunción glomerular), la α -1 MG urinaria se usa en la detección temprana de nefropatía en sujetos con diabetes (Hong et al., 2003; Marczewski et al., 1996). La α -1 MG fue usada como marcador en los estadios tempranos de nefropatía diabética asociada a DMT2. Los túbulos proximales son dañados tan pronto como en la etapa subclínica de la nefropatía diabética (Marczewski et al., 1996).

1.2.8 Growth arrest-specific protein-1 (GAS-1)

GAS-1 es una proteína pleiotrópica con funciones proliferativas y proapoptóticas novedosas. Su principal actividad proapoptótica se ha observado en neuronas del hipocampo, neuroblastoma y células de glioma (Domínguez-Monzón et al., 2011; Segovia and Zarco, 2014). GAS-1 mejora la señalización de la vía Hedgehog (Shh), que es importante en el desarrollo del sistema nervioso central, principalmente durante el desarrollo del tubo neural, vertebral y craneofacial (Allen et al., 2007; Martinelli and Fan, 2007). Se ha observado que GAS-1 juega un rol potencial como supresor de tumores en pulmón, vejiga, tiroides y estómago y podría ser usado como un marcador de metástasis o de tumores benignos en próstata y

cáncer colorrectal (Jiang et al., 2011; Lapouge et al., 2005; Rizzi et al., 2008; Wang et al., 2012).

GAS-1 es una proteína anclada a glicosil-fosfatidil-inositol, la cual está sobre-expresada en fibroblastos embrionarios de ratón e inhibe su proliferación mediante el bloqueo del ciclo celular en la transición G1/S0. Su funcionalidad depende de la actividad de p53 (Del Sal et al., 1995; Del Sal et al., 1992). GAS-1 muestra alta homología estructural con el factor neurotrófico derivado de las células gliales, de la familia de los receptores alfa. GAS-1 se une al receptor tirosina-cinasa RET, disminuye su fosforilación y modifica la señalización río abajo (Cabrera et al., 2006; López-Ramírez et al., 2008).

Hasta la fecha, la función precisa de GAS-1 en el riñón adulto es completamente desconocida. Sin embargo, se ha demostrado que la proteína soluble GAS-1 recombinante es capaz de inhibir la proliferación de células del glomérulo. La proteína GAS-1 fue localizada en podocitos de riñones de ratas sanas. GAS-1 es un inhibidor endógeno de la proliferación de células glomerulares mesangiales y podría ser un blanco terapéutico para el tratamiento de enfermedades glomerulares mesangioproliferativas (Van Roeyen et al., 2013).

En un estudio publicado por Zarco en 2012, se observó que la presencia de GAS-1 reduce la fosforilación de RET e inhibe la activación de AKT. También se determinó que la presencia de GAS-1 dispara la desfosforilación de BAD, la cual, en su momento, provoca la liberación del citocromo C desde la mitocondria al citosol activando la caspasa-9, promoviendo la actividad de la caspasa-3 y dando como resultado la apoptosis de las células. El proceso apoptótico es intrínseco, porque no hay activación de la caspasa-8, siendo esto consistente con la apoptosis inducida por la ausencia del soporte trófico. Interesantemente, en células donde GAS-1 ha sido silenciado se observa un significativo retraso en el comienzo de la apoptosis (Zarco et al., 2012).

En otro estudio se presentó evidencia de que el factor de transcripción supresor 1 del tumor de Wilms (WT1) modula la señalización del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) mediante la activación de la expresión de GAS-1, un nuevo gen blanco de WT1 y un novedoso modulador de la señalización de FGF (Kann et al., 2015). Estos autores confirman que WT1 es requerido para la expresión de GAS-1 en riñones *in vivo*. La pérdida de la función de GAS-1 *in vivo*, resulta en riñones hipoplásicos con reducida masa de nefronas debido a la prematura eliminación de las células progenitoras de la nefrona (NPCs). Sus datos sugieren un modelo en el cual WT1 modula la señalización del receptor tirosina cinasa en las NPCs mediante la dirección de la expresión de GAS-1 (Kann et al., 2015). Los antecedentes del modo de acción de GAS-1 citados anteriormente se encuentran en la tabla 1.6.

Tabla 1.6 GAS-1: modo de acción

Autor/Año	Métodos	Hallazgos
Domínguez-Monzón et al., 2011	Revisión	La sobreexpresión de GAS-1 inhibe la proliferación mediante el bloqueo de la fase G0/S del ciclo celular en gliomas humanos y en adenocarcinoma de pulmón.
Segovia and Zarco, 2014	Revisión	GAS-1 tiene una actividad proapoptótica principalmente en neuronas del hipocampo, neuroblastoma y células del glioma.
Jiang et al., 2011; Lapouge et al., 2005; Rizzi et al., 2008; Wang et al., 2012; Spagnuolo et al., 2004.	<i>In vitro</i>	GAS-1 tiene un rol potencial como un supresor de tumores en pulmón, vejiga, tiroides y estómago y podría ser usado como un marcador de metástasis en tumores de la próstata y cáncer colorectal.
Zhanh et al., 2014	Experimental	GAS-1 es expresada durante la nefrogénesis y su expresión es modulada mediante el factor de transcripción WT1
	<i>In vitro/ In vivo</i>	Se ha observado la expresión de GAS-1 en células mesangiales, donde actúa como un inhibidor endógeno de la proliferación celular.
Segovia and Zarco, 2014	Experimental	En casos de DMT1 se reduce la expresión de GAS-1 e incrementa la expresión de los marcadores como NCAM, CD24 y SIX1/2 y marcadores del mesénquima como PAX2 en la cápsula de Bowman.

2. Justificación

La ERC es devastadora y ha tenido proporciones epidémicas en el mundo. Se caracteriza por una declinación progresiva en la función renal que es asociada con exceso en la morbi-mortalidad. El estándar de oro para el monitoreo de la función renal es la medición real de la TFG por 24 h en colección de orina, así como la proteinuria; por lo tanto, los principales biomarcadores usados para definir la ERC son la CrS y albuminuria. Estos biomarcadores están enfocados directamente sobre la filtración y la función de la barrera del glomérulo renal, que al igual que la albuminuria, resultan de la disfunción tubular también. El mayor problema con la CrS como marcador para falla renal aguda es que la CrS por definición es un parámetro funcional y sus concentraciones pueden no presentar cambio hasta que un 50% de la función renal se haya perdido.

Recientemente se ha descrito, la expresión de GAS-1 (*Growth Arrest Specific protein - 1*) tanto en el glomérulo como en el túbulo proximal de la nefrona; de igual forma que los actuales y principales biomarcadores de daño renal crónico; su expresión, así como su función, han sido poco estudiados en el riñón. No se sabe si GAS-1 juega un papel en la ERC por lo cual es importante evaluar a GAS-1 en orina para entender si puede asociarse con en el desarrollo de ERC en adultos mexicanos que presentan algún factor de riesgo para el desarrollo de ésta.

3. Hipótesis

Existe correlación positiva entre los biomarcadores de daño renal temprano y de la proteína GAS-1 con el estadio de la ERC con la TFGe en una población de la Comarca Lagunera.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Relacionar las concentraciones urinarias de los biomarcadores de daño renal temprano y de la proteína GAS-1 con la TFGe en una población con factores de riesgo para desarrollo de la ERC de la Comarca Lagunera.

4.2. Objetivos específicos

- 1) Analizar las características sociodemográficas de la población de estudio.
- 2) Evaluar las concentraciones urinarias de NGAL, KIM-1, Cys-C, α -1 MG y GAS-1 en la población de estudio.
- 3) Estimar la tasa de filtrado glomerular en la población de estudio.
- 4) Relacionar las concentraciones urinarias de los biomarcadores de daño renal con la TFGe.

5. Métodos

5.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio de tipo transversal, descriptivo y de relación en 198 personas adultas, originarias de la Comarca Lagunera, a través de una invitación abierta usando carteles y redes sociales. Se incluyeron 114 muestras, que cumplieran con los criterios de inclusión. Las muestras urinarias fueron colectadas por el equipo del laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC). Se consideraron a participantes que respondieron a la invitación exprofeso y a pacientes del Hospital General Universitario dependiente de la UAdeC. Ciento sesenta participantes cumplieron con los criterios de inclusión; sin embargo, sólo fueron tomados ciento catorce de éstos debido a que algunas muestras no contaron con suficiente volumen para llevar a cabo las determinaciones. Las muestras forman parte del estudio titulado "*Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs4072037, rs13146355, rs3925584, rs7197653, rs448378 y rs4561213, y su relación con el manejo renal de magnesio en individuos de la Comarca Lagunera*", el cual fue sometido y aprobado por el Comité de Bioética de la UAdeC. Dichas muestras se encontraron disponibles y congeladas a -70°C hasta su análisis.

5.2. Criterios de inclusión y exclusión

5.2.1. Criterios de inclusión:

- Originarios de la Comarca Lagunera.

- Adultos de 40 a 75 años de edad.
- Que cuenten o no, con alguno de los siguientes factores de riesgo para desarrollar ERC: DMT2, HTA.
- Donación voluntaria de muestra de sangre y orina.
- Firma de consentimiento informado.

5.2.2. Criterios de exclusión:

- Enfermedad renal por causas autoinmunes, hipertensión o no diabética.
- Comorbilidades como cáncer, enfermedades cardíacas agudas, hepatopatías, desnutrición, enfermedad tiroidea, choque séptico.

5.2.3. Criterios de eliminación:

- Pérdida de la muestra.
- Muestra insuficiente.

5.3. Recolección de la información

A través de la historia clínica completa se obtuvo la información general como edad, sexo, ocupación, antecedentes de salud y su diagnóstico clínico.

5.4. Obtención de la muestra de sangre

La muestra de sangre fue obtenida en condición de ayuno por punción venosa y en tubos con gel de separación sin anticoagulante; se centrifugaron los tubos a 1500 rpm durante quince minutos para obtener el suero, se tomó una alícuota de 2 mL del sobrenadante mismo y se almacenó a 4°C hasta su análisis en las instalaciones del Hospital General de Coahuila adjunto a la Facultad de Medicina de Coahuila, unidad Torreón.

5.5. Evaluación clínica de los participantes

Consistió en una evaluación física de cada participante la cual se llevó a cabo gracias a la colaboración de personal calificado del Hospital General de Coahuila adjunto a la Facultad de Medicina de Coahuila, unidad Torreón, donde se recopilaron datos antropométricos como: talla, peso, índice de masa corporal (IMC); así como signos vitales como tensión arterial (T/A), frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y temperatura, usando los dispositivos de medición convencionales, previamente ajustados y calibrados.

5.6. Obtención de la muestra de orina

La muestra de orina fue proporcionada por cada participante de forma voluntaria, ésta fue la primera de la mañana (chorro medio), y fue colectada en un recipiente estéril de polipropileno, posteriormente cada muestra fue dividida en tubos de 15 mL. La muestra fue utilizada para la determinación de biomarcadores, se le agregaron 5 μ L de inhibidor de proteasas (SIGMAFAST TM), se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min a temperatura ambiente y del sobrenadante se tomaron 2 alícuotas, de aproximadamente 1 mL cada una en tubos de polipropileno en todos los casos en que fue posible (suficiencia de la muestra). Éstas se transportaron a 4°C (en hielo) y se almacenaron a -80°C hasta su análisis en el Departamento de Toxicología en Cinvestav-IPN, donde se conservaron por menos de 6 meses. Las muestras no fueron usadas para análisis cuando tuvieran más de dos ciclos de descongelamiento.

5.7. Análisis de química sanguínea

El análisis de química sanguínea se llevó a cabo en el Hospital General de Coahuila adjunto a la Facultad de Medicina de Coahuila, unidad Torreón, por personal calificado y mediante el uso de un equipo automatizado de química clínica que se basa en reacciones espectrofotométricas para la cuantificación de varios parámetros en suero como: glucosa, CrS, urea, ácido úrico, colesterol total, triglicéridos, TGO, TGP, etc.

5.8. Examen General de Orina (EGO)

Fue realizado por personal calificado del Hospital General de Coahuila adjunto a la Facultad de Medicina de Coahuila, unidad Torreón, y consistió en uroanálisis y observación del sedimento urinario.

Principio

El EGO se hizo usando tiras reactivas que son comúnmente usadas ya que proporcionan un medio simple y rápido para llevar a cabo el análisis químico de la orina, midiendo: pH, proteínas, cuerpos cetónicos, glucosa, leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, nitritos, etc. Las tiras tienen almohadillas impregnadas con reactivos químicos adheridas a una tira plástica; al momento de entrar en contacto con la orina producen reacciones de color que se interpretan a través de una escala cromática provista por el fabricante. Para diferenciar el pH se utiliza frecuentemente un sistema de indicador doble de rojo de metilo y azul de bromotimol (Abbud-Filho et al., 2007). La prueba de proteínas en orina de las tiras reactivas se basa en el principio de error proteico de los indicadores para producir una reacción

colorimétrica visible, es decir se basa en el hecho de que algunos indicadores de pH cambian de color ante la presencia de proteínas aun cuando el pH del medio permanece constante; esto se debe a que las proteínas (y en especial la albúmina) adquieren iones hidrógeno a expensas del indicador. La detección de glucosa se basa en la reacción enzimática de la glucosa oxidasa que cataliza la oxidación de la glucosa por el oxígeno ambiental para formar D-glucono- δ -lactona y peróxido de hidrógeno. En una segunda reacción acoplada, mediada por una enzima peroxidasa, se cataliza la reacción entre el peróxido y un cromógeno (una sustancia que adquiere color luego de una reacción química), para formar un compuesto coloreado que indica la concentración de glucosa (Abbud-Filho et al., 2007). Las pruebas de tira reactiva para la detección de cetonas se basan en la reacción del nitroprusiato (nitroferricianuro). En esta reacción el ácido acetoacético en medio alcalino reacciona con el nitroprusiato de sodio para producir un complejo de color magenta (Abbud-Filho et al., 2007). Para la detección de sangre en orina, se detecta la actividad pseudoperoxidasa de la hemoglobina para catalizar una reacción entre peróxido de hidrógeno y el cromógeno tetrametilbencidina para producir un producto oxidado de color azul oscuro (Abbud-Filho et al., 2007). La bilirrubina se combina con una sal de diazonio (2,4-dicloroanilina o 2,6-diclorobenceno-diazonio-tetrafluoroborato) en medio ácido para producir un colorante azoico con colores que varían del rosado al violeta. Para el urobilinógeno algunos fabricantes utilizan la reacción de Ehrlich en la que el urobilinógeno reacciona con p-dimetilaminobenzaldehído (reactivo de Ehrlich) para producir colores que varían del rosa claro al rosa oscuro. Otros fabricantes utilizan una reacción de acoplamiento diazo (2) que utiliza 4-mtoxibenceno-diazonio-tetrafluoroborato para producir colores que varían del blanco al rosa. Se detecta nitrito por medio de la reacción de Greiss en la que el nitrito reacciona en medio ácido con una amina aromática (ácido para-arsanílico o sulfanilamida) para formar una sal de diazonio que a continuación se hace reaccionar con una tetrahidrobenzoquinolina para producir un colorante azoico de color rosa. La reacción de la tira reactiva se sustenta en la acción de la esterasa leucocitaria para catalizar la hidrólisis de un éster de ácido indolcarboxílico y detectar leucocitos. El indoxilo liberado se combina con una sal de diazonio para producir un colorante azoico de color violeta. La prueba de tira reactiva para densidad se basa en el cambio de la constante de disociación (pKa) de un polielectrolito aniónico (poli-(metil vinil éter/anhídrido maleico) en medio básico que se ioniza y libera iones hidrógeno en proporción al número de cationes presentes en la solución (Abbud-Filho et al., 2007).

Procedimiento

El procedimiento consta de mezclar bien la muestra (orina fresca, tan pronto como fue entregada por el paciente) contenida en el tubo, se sumerge la tira reactiva durante unos segundos a temperatura ambiente, se retira la tira, se elimina el exceso de orina mediante secado con papel absorbente, se esperan entre 1-2 minutos aproximadamente y se compara la reacción de color mostradas en las almohadillas con la escala colorimétrica proporcionada por el fabricante. Después el resto de la orina se centrifuga a 1500 rpm durante 10 minutos y se agrega una gota de colorante al botón del sedimento, posteriormente se agrega una gota de sedimento en un portaobjetos observándose 20 campos al microscopio.

5.9. Determinación de biomarcadores de daño renal en orina

Principio

Para la determinación de los biomarcadores de daño renal en orina, se usó el sistema de micro-esferas MILLIPLEX® xMAP®–Human Kidney Toxicity Panel 3 y 4 (Millipore Corporation), basado en la tecnología Luminex® xMAP, la cual nos permite cuantificar de manera simultánea y usando la misma muestra de orina, los biomarcadores de daño renal temprano como: Cys-C, KIM-1, entre otros. El sistema Luminex® se basa en la combinación de un inmunoensayo enzimático tipo sándwich (ELISA) y la detección por un sistema de imagen CCD (*Charge-Coupled Device*). Cada micro-esfera está marcada en su superficie, con una proporción determinada de dos fluorocromos y además está cubierta con anticuerpos específicos de captura de cada biomarcador. Una vez que el analito de interés es capturado por las microesferas, se emplea un segundo anticuerpo biotinilado y un conjugado de streptavidina-ficoeritrina (S-PE), como molécula reportera para completar la reacción. Las microesferas son analizadas en un procesador digital (MAGPIX® de Luminex Corp.) donde un magneto captura las microesferas en una monocapa y dos diodos emiten dos espectros diferentes, uno (635 nm) que excita al colorante interno de las micro-esferas, mientras que el otro (525 nm) excita la molécula reportera. El equipo toma una imagen con el sistema CCD y el resultado del bioensayo se basa en la identificación de la fluorescencia emitida por cada microesfera, así como la cuantificación de la fluorescencia emitida por la molécula reportera.

Procedimiento

Al momento de analizar los biomarcadores, las muestras de orina almacenadas se descongelaron a temperatura ambiente, se homogeneizaron y se centrifugaron a 3000 rpm a 4°C durante 10 minutos, con el fin de remover las partículas interferentes; posteriormente se tomó una alícuota de 13 µL del sobrenadante y se puso en contacto con las micro-esferas

contenidas en una placa de 96 pozos, después se añadió un segundo anticuerpo biotinilado contra el anticuerpo localizado en la superficie de las esferas y se adicionó el conjugado de streptavidina-ficoeritrina (S-PE) como molécula reportera para completar la reacción. Finalmente, las placas fueron llevadas al procesador digital (MAGPIX®, Millipore) donde dichas microesferas fueron expuestas a través de un primer láser (635nm) para excitar al colorante interno de las micro-esferas para identificar a cada una, así como a través de un segundo láser (525nm) que excitó a las molécula reportera. El procesador identificó la señal de cada esfera y se cuantificó la señal emitida por la molécula reportera, como proporcional a la concentración del biomarcador en la muestra de orina.

Como parte del control de calidad para evaluar la exactitud y precisión se añadieron un 10 a 15% de muestras duplicadas, elegidas aleatoriamente y se determinó el porcentaje de recuperación (valora exactitud) y el coeficiente de variación (para valorar la precisión).

5.10. Determinación de GAS-1 en orina

Principio

Para la cuantificación de GAS-1 se utilizó el estuche comercial DuoSet® de la casa R&D Systems. La técnica se basa en un inmunoensayo enzimático tipo sándwich (ELISA) seguido de la detección por espectrofotometría. Cada estuche contiene una placa de 96 pozos que tendrá adherido una capa de anticuerpos monoclonales anti-GAS-1. Una vez que el analito de interés es capturado por este anticuerpo se emplea un segundo anticuerpo biotinilado y un conjugado enzimático, que ante el sustrato tetrametilbencidina (TMB), generará un producto colorido cuya absorbancia se midió a 405 y 650 nm. La formación del producto colorido es proporcional a la cantidad de GAS-1 en la muestra.

Procedimiento

En una placa de 96 pozos se adicionaron 100µL de muestra, estándares, blancos y controles en los pozos apropiados. Posteriormente se adicionó el anticuerpo apropiado y se incubó 2 h a temperatura ambiente. Se lavó la placa y se agregó la solución de conjugado enzimático a cada pozo, excepto el blanco y se incubó por 30 min. Se lavó la placa y se adicionó el estabilizador de cromógeno y pasados 30 min la solución de paro para finalmente determinar la absorbancia a 405 y 650 nm.

Para evaluar la precisión se repitieron en un segundo análisis, algunas muestras elegidas al azar (10% de las muestras), y para determinar la exactitud se utilizó una muestra

con concentración conocida de GAS-1, donada por el departamento de Fisiología del CINVESTAV-IPN que se valoró en repetidas veces con resultados muy similares.

5.11. Determinación de creatinina en orina

Principio

Para la determinación de CrU se utilizó el estuche CREA (CR510) de Randox®, basado en la reacción de Jaffé (Guterres et al., 2004), que consiste en la reacción del ácido pícrico en medio alcalino con la creatinina, para la formación de un tautómero de picrato de creatinina de color naranja rojizo brillante que se mide en un espectrofotómetro a 500nm.

Procedimiento

Las muestras de orina se centrifugaron a 3000 rpm a 4°C durante 10 min para eliminar partículas interferentes y con el sobrenadante se realizaron diluciones 1:50. Durante el análisis se mezclaron 50 µL de la dilución de la orina con 450 µL en una mezcla 1:1 del reactivo 1 y 2 del estuche en un tubo de polipropileno; después, se mezcló en vortex por 25 segundos y se cuantificó la lectura de la absorbancia en el fotómetro Tecan®.

Para evaluar la precisión de la técnica, para 5% de las muestras se hizo la determinación por duplicado, eligiéndolas de forma aleatoria; para evaluar la exactitud se utilizaron muestras con concentración conocida de creatinina asegurándose de que existiera coincidencia en los valores.

5.12. Normalización de biomarcadores por creatinina urinaria

Las concentraciones de los biomarcadores fueron normalizadas por CrU a partir de la fórmula $XCU=X1/CrU$ (Miller et al., 2004), donde XCU representó la concentración del analito (los biomarcadores, en este caso) normalizado por CrU y, X1 fue la concentración del analito en la orina.

5.13. Cálculo de la TFGe

La TFGe se calculó en todos los participantes mediante la fórmula de Cockcroft-Gault (ver tabla 1.2).

5.14. Análisis estadístico

Los resultados generados fueron organizados y capturados en el programa estadístico STATA, versión 12.1 (Stata Corp, College Station, TX) y con el programa Graphpad Prisma 6.

Con los resultados obtenidos se realizó estadística descriptiva (frecuencias, proporciones, medias, desviaciones estándar, etc.). En cuanto a la estadística inferencial como análisis multivariado, o regresiones, éstas no se incluyeron, ya que los modelos no explican, con valor estadísticamente significativo, ninguna asociación entre nuestras variables de interés. Se utilizaron las diferentes pruebas estadísticas para comparación de diferencias de medias y de proporciones, según correspondieran como por ej. Chi-cuadrada de Pearson, *t* de Student, etc., para el análisis bivariado.

Inicialmente y para todas las variables se hicieron pruebas de normalidad, en nuestro caso Kruskal Wallis, y debido a que nuestra muestra presentó una distribución no normal, se decidió dar un tratamiento a los datos para poderlos analizar con pruebas estadísticas para muestras con distribución normal, elevándolos a logaritmo base 10.

Análisis univariado

Es usado con fines descriptivos, analiza una sola variable al mismo tiempo. La estadística univariada de este estudio para las variables continuas incluyó medidas como la media, la mediana y sus intervalos intercuartílicos; y medidas de dispersión como rango y desviación estándar. Para las variables categóricas se incluyeron frecuencias y porcentajes de las mismas.

Análisis bivariado

Su propósito es determinar si existe relación entre dos variables. Es usada para determinar si las variables cumplen con supuestos como normalidad y variación y permite, de esta manera, elegir la prueba estadística que se aplicarán a las variables de interés.

Variabes del estudio

- 1) Variables dependientes: tasa de filtrado glomerular.
- 2) Variables independientes: KIM-1, NGAL, Cistatina C, GAS-1. Alfa1-microglobulina.
- 3) Variables confusoras: edad, sexo, índice de masa corporal (IMC), masa muscular.

6. RESULTADOS

6.1. Características generales de la población de estudio

En el presente estudio se incluyeron 114 sujetos adultos que cumplieron los criterios de inclusión midiendo en todos, los biomarcadores de daño renal; el 37% fueron hombres (42) y el 63% mujeres (72). A todos se les realizó un examen clínico, y en algunos casos, revisión de expediente médico, cuantificándose la glucosa en ayuno. Aquellas personas que tuvieron concentraciones de glucosa sérica \geq a 126 mg/dL, el punto de corte establecido por la Asociación Americana de la Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) o bien, con diagnóstico previo de diabetes tipo 2, se les consideró como tal. Así mismo, se calculó la TFG, por medio de la fórmula de Crockcroft-Gault, considerando los valores de creatinina sérica (Crs), edad, talla, peso. Los participantes se dividieron en 3 grupos: 1. Grupo Control (CTRL): sujetos sin patologías clínicas previamente diagnosticadas sin DMT2 y con TFGe $>$ 60mL/min/1.73m² (32.43%); 2. Grupo con DMT2 (DMT2) (33.33%): pacientes con diagnóstico previo de DMT2 establecido por un especialista o con concentración sérica de glucosa en ayuno \geq a 126 mg/dL (ADA, 2012) y con una TFGe \geq a 60 mL/min/1.72 m²; y 3. Grupo con nefropatía diabética (NFD), aquellos participantes con diagnóstico de DMT2 y con TFGe \leq a 60 ml/min/1.73 m² (34.2%). En la tabla 3.1 se describen las características generales de los participantes y los resultados medios de los marcadores clínicos y de los biomarcadores evaluados en la población de estudio. Para el caso de las concentraciones de los biomarcadores, dado que su distribución no era normal, se decidió transformar estas variables logarítmicamente para estimar sus concentraciones medias y su desviación estándar. El promedio del IMC fue de 34 Kg/m², lo que denota la condición de sobrepeso y obesidad de los participantes de los tres grupos de estudio (ver tabla 3.1).

Tabla 3.1 Características clínicas, bioquímicas y concentraciones promedio de los biomarcadores de daño renal obtenidos en esta población de estudio

Variable	Controles (CTRL) N: 37	Diabéticos (DMT2) N: 38	Nefrópatas (NFD) N:39	P
Edad (años)	51.76 ± 8.12 (40-72)	55.31± 10.97 (32-75)	62.76 ±7.80 (35-75)	0.0001
IMC (kg/m²)	29.88 ± 5.38 (21.6-43.44)	30.80±1.04 (19.82-53.40)	28.29±6.04 (18.03-40.06)	0.25
Sexo (F/M)	F: 29 M: 8	F:22 M:16	F:19 M:20	
Glucosa sérica (mg/dL)	95.86 ± 11.68 (76-122)	167.7 ± 82.01 (80-484)	125.9 ± 64.51 (55-443)	0.0001
CrS (mg/dL)	0.79 ± 0.23 (0.34-1.23)	0.78 ± 0.18 (0.5- 1.3)	4.89 ± 4.6 (0.08- 19.4)	0.0001
CrU (mg/dL)	13.19 ±7.0 (4.5-36)	14.15±12.89 (4.5-52.5)	43.41 ±16.57 (13- 66.9)	0.0003
TFGe C-G (mL/min/1.73m²)	98.3 ± 43.27 (67.9-139.6)	85.77 ± 47.99 (60-117.6)	24.23 ± 24.25 (6.3-41.95)	0.0001
KIM-1* (ng/mgCr)**	1.085 ± 0.36 (0.39 -1.98)	1.10 ± 0.31 (0.45 – 1.81)	1.56 ± 0.47 (0.76 - 2.61)	0.0001
NGAL* (ng/mgCr)**	2.316 ± 0.56 (1.06-3.54)	2.15 ± 0.76 (0.63-4.43)	3.40 ± 0.79 (1.86-4.58)	0.0001
Cistatina C* (ng/mgCr)**	1.45 ± 0.83 (-0.24-3.10)	1.26 ± 0.77 (0.08-3.92)	2.64 ± 1.02 (0.79-4.03)	0.0001
α-1 MG* (ng/mgCr)**	2.94 ± 0.39 (1.84-3.87)	1.63 ± 1.19 (-1.04-3.09)	3.89 ± 0.57 (2.59-5.36)	0.0001
GAS-1* (pg/mgCr)**	3.034± 0.63 (1.43-4.31)	2.945 ± 0.64 (0.88-4.90)	3.62 ± 0.60 (2.46-4.78)	0.0001

*La variable fue transformada para el análisis estadístico a Log¹⁰

**Las concentraciones de cada analito están justadas por CrU, se muestran concentraciones medias y su desviación estándar

F: femenino; M: masculino

6.2. Edad

En la figura 3.1, observamos que existe diferencia significativa entre las medias de edad promedio de los grupos CTRL y de DMT2 y NFD. El grupo CTRL es el grupo de menor edad (51.76 ± 8.125 años) mientras que la edad es significativamente mayor en los grupos de mayor riesgo (55.3 y 62.8 años) respectivamente. Por lo tanto, hay diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.0001$) entre las medias de edad entre los grupos de interés, siendo la más significativa el grupo de CTRL y NFD, lo que implica que nuestros grupos son diferentes entre sí, en cuanto a la edad se refiere.

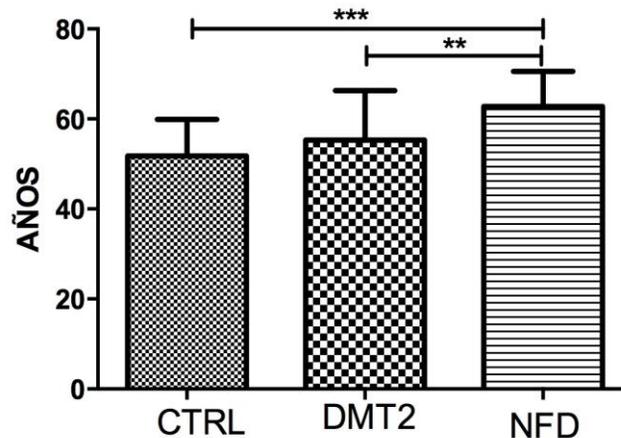


Figura 3.1 Diferencias en las edades en los tres subgrupos de estudio de la población de estudio.

Análisis de Varianza; post hoc Dunn's. CTRL: Control; DMT2: Diabetes mellitus tipo 2; NFD: Nefropatía Diabética. ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

6.3 Glucosa sérica

En la figura 3.2, observamos que existen diferencias significativas entre los 3 grupos: CTRL, DM2, y NFD, siendo la media de glucosa para cada grupo: 95.86 ± 11.68 (rango 76 a 122 mg/dL), 187.7 ± 82.01 (intervalo 80 a 484 mg/dL) y 125.9 ± 64.51 (intervalo 55 a 443 mg/dL, respectivamente. Por lo que podemos concluir que para nuestra población de estudio hay diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.0001$) entre las medias de glucosa de los 3 grupos de interés, por lo que nuestros tres grupos son diferentes entre sí. Dado que la concentración de glucosa sérica es el parámetro que permitió clasificar a los sujetos de este estudio en controles y diabéticos, este resultado y las diferencias significativas corresponden con los esperados.

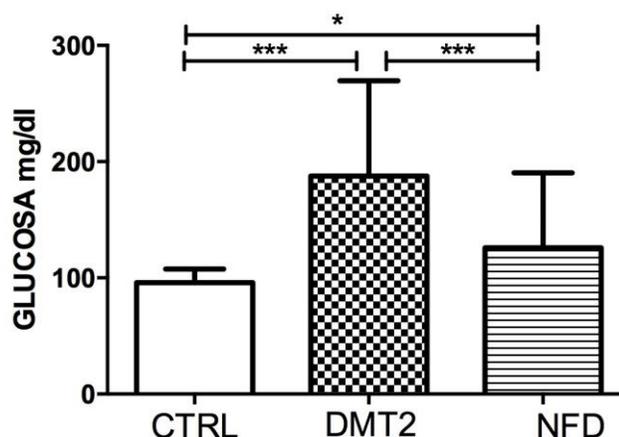


Figura 3.2 Concentraciones de glucosa sérica en condición de ayuno en los tres grupos de la población de estudio: CTRL, DMT2 y NFD. Se muestra la media y la desviación estándar.

Análisis de Varianza; post hoc Dunn's. CTRL: Control; DM: Diabetes Mellitus tipo 2; NFD: Nefropatía Diabética. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

6.4. Parámetros de función glomerular: CrS, CrU y TFGe

En la figura 3.3 se muestran tres paneles comparativos de los tres grupos de estudio. En los paneles A y B se muestran las comparaciones entre las concentraciones de CrS y CrU, donde claramente el grupo NFD presenta un promedio significativamente mayor a los grupos CTRL y DMT2. En el panel C de la figura 3.3 se muestra la TFGe, donde el grupo NFD presenta una disminución significativa de la función renal, mientras que la TFGe entre los grupos CTRL y con DMT2 es similar.

Con base en estos resultados, se aprecia que hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de interés; hay concordancia entre los niveles tanto de CrS y de CrU y la TFGe, donde claramente vemos que ésta última es más baja en el grupo de NFD y más alta en el grupo CTRL y esta misma TFGe sigue una relación inversamente proporcional con la CrS y CrU en estos mismos grupos, acorde con la progresión de la enfermedad renal.

6.5. Biomarcadores de daño renal: KIM-1, Cys-C, NGAL, α -1 MG

Se determinaron las concentraciones en orina de las diferentes proteínas urinarias, todas ellas ajustadas por CrU; donde observamos que para la proteína KIM-1, los pacientes con NFD presentaron un aumento, con un valor de media 1.56 ± 0.47 ng/mg CrU (rango 0.76 a 2.61). El grupo CTRL mostró una media de 1.085 ± 0.36 ng/mg CrU (intervalo 0.39 a 1.98), mientras

que en DMT2 se encontraron valores de 1.10 ± 0.31 ng/ mg CrU (intervalo 0.45 a 1.81, ver figura 3.4A). La concentración de la proteína NGAL no mostró diferencias entre los grupos CTRL y DMT2, con valores de 2.31 ± 0.56 (intervalo 1.06 a 3.54) y 2.15 ± 0.76 ng/ mg CrU (intervalo 0.63 a 4.43), respectivamente ($P < 0.0001$). Las diferencias entre los grupos pueden observarse en la figura 3.4B. Para la CysC encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de los grupos de estudio, siendo mayores en el grupo NFD (media 2.64 ± 1.02 ; intervalo de 0.79 a 4.03 ng/ mg CrU). No existieron diferencias entre los valores de Cys-C entre CTRL y DMT2 (CTRL: media 1.45, intervalo -0.24 a 3.10; DMT2: media 1.26, intervalo 0.08 a 3.92; ver figura 3.4C). La proteína α -1 MG mostró un aumento en el grupo de NFD (3.89 ± 0.57 ng/mg CrU; intervalo de 2.59 a 5.36 ng/ mg CrU) siendo mayor y estadísticamente significativa que entre los grupos CTRL y DMT2 (2.94 ± 0.39 , intervalo 1.84 a 3.87 ng/ mg CrU; 1.63 ± 1.19 , intervalo -1.04 a 3.09 ng/ mg CrU, respectivamente); ver figura 3.4 panel D.

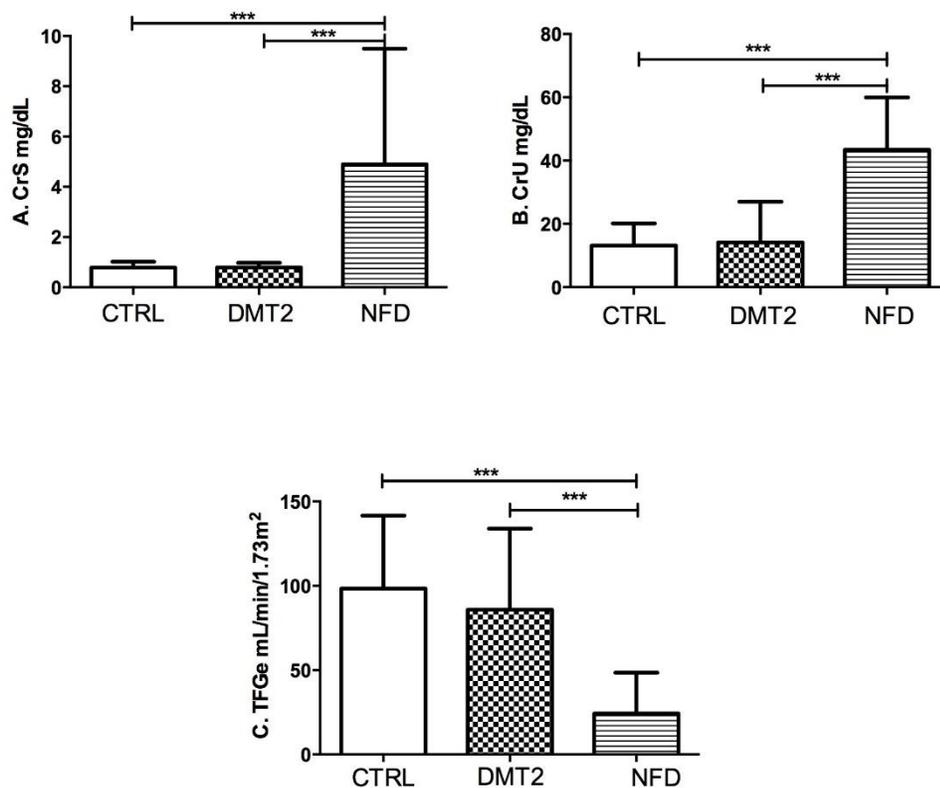


Figura 3.3 Análisis comparativo de las concentraciones de Creatinina sérica, creatinina urinaria y de la TFGe en los 3 grupos de estudio de la población de estudio. Análisis de Varianza; post hoc Dunn's. Las barras representan la media y la desviación estándar. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

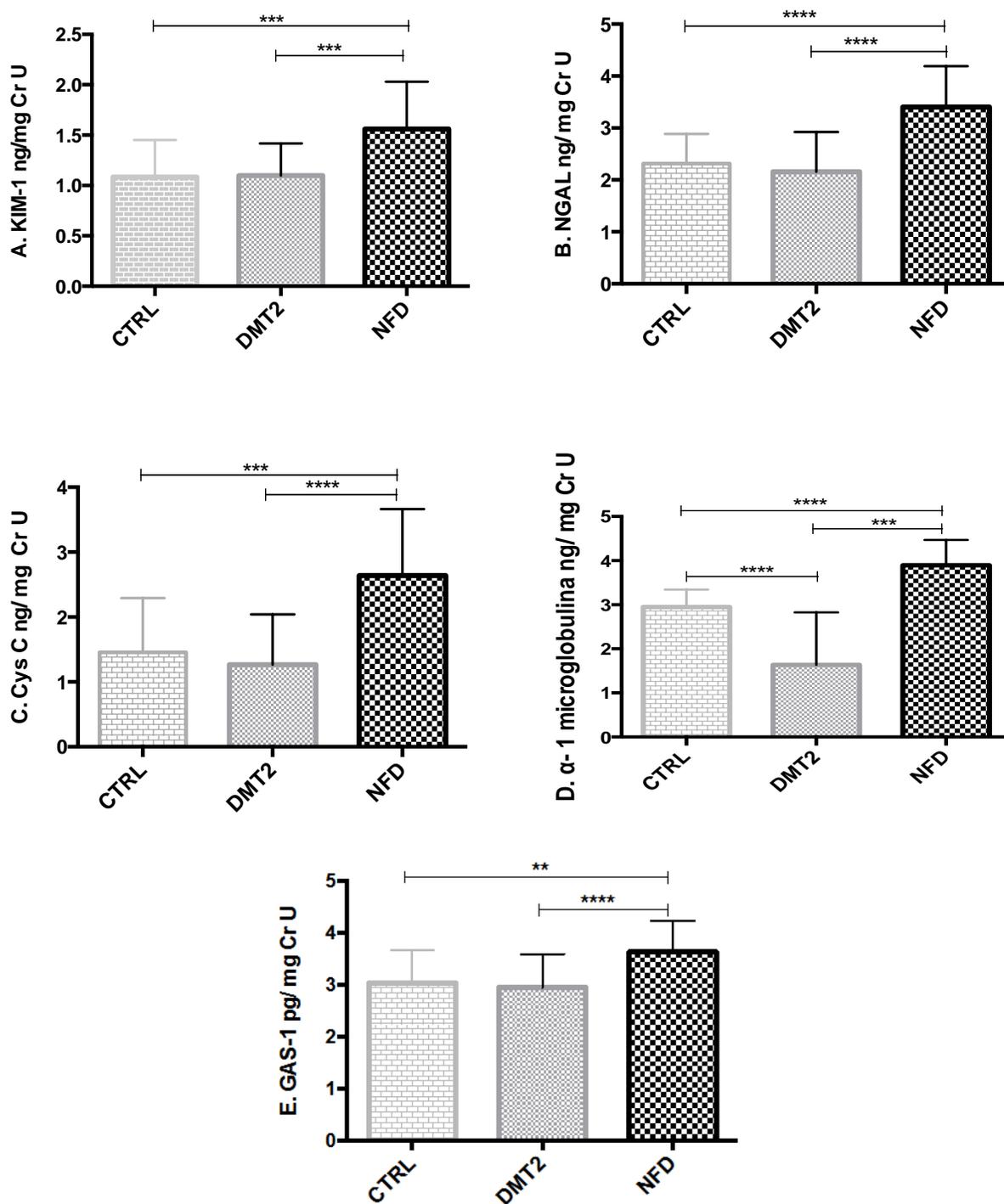


Figura 3.4 Análisis comparativo de los marcadores de daño renal temprano y GAS-1 en la muestra de los 3 subgrupos de estudio de la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.

Análisis de varianza; post hoc Dunn's. CTRL: Control; DM: Diabetes Mellitus tipo 2; NFD: Nefropatía Diabética. * P<0.05, ** P< 0.001, ***P<0.0001.

6.6. GAS-1

Finalmente, la concentración de la proteína GAS-1 fue cuantificada en orina. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre CTRL (3.03 ± 0.63 pg/ mg CrU, intervalo 1.43 a 4.31) y DMT2 (2.94 ± 0.64 pg/ mg CrU, intervalo 0.88 a 4.90). Sin embargo, en el grupo NFD, se encontraron valores mayores con respecto a los dos grupos restantes (3.62 ± 0.60 pg/ mg CrU, intervalo 2.46 - 4.78), $P < 0.0001$ (Ver figura 3.4 panel E). Todos los biomarcadores de daño renal mostraron el mismo comportamiento, siendo más evidente y estadísticamente significativas las diferencias entre los grupos CTRL y NFD. En el caso de todas estas proteínas, se elevaron los valores de acuerdo con el grado de ERC ya que encontramos los valores más bajos de éstas en el grupo CTRL y los más altos en el grupo de NFD; así mismo se aprecia una tendencia a elevarse en el grupo de DMT2, mucho más que en el grupo CTRL, fisiopatológicamente esperado debido a la progresión de la ERC en individuos de mayor edad.

6.7. Relación entre glucosa sérica, TFGe, biomarcadores urinarios de daño renal y GAS-1 en orina

Para evidenciar una posible correlación entre los parámetros clínicos como la concentración sérica de glucosa y la TFGe, biomarcadores renales y/o GAS-1, se realizaron pruebas de análisis de correlación de Pearson para la obtención del valor del coeficiente de correlación (r^p), considerando un valor de $P < 0.05$, como estadísticamente significativo. En el análisis de datos en conjunto, es decir incluyendo los tres grupos estudiados, se encontró una correlación entre la TFGe y las 5 proteínas (ver tabla 3.2.2).

Tomando en cuenta los datos anteriores, donde se analizaron los diferentes biomarcadores de daño renal temprano y con las concentraciones de glucosa en sangre y TFGe, vemos que en la mayoría de ellos se presenta una correlación negativa débil, lo que se traduce en que, a medida que los valores de biomarcadores de daño renal temprano se incrementan, las concentraciones de glucosa y TFGe disminuyen; sin embargo, al analizar esta población de estudio de la Comarca Lagunera en un solo conjunto, vemos que aquí sí se presenta una correlación negativa entre los biomarcadores y TFGe, y su coeficiente de correlación es mayor, además de que es estadísticamente significativa ($P < 0.0001$), como se aprecia en las tablas 3.2.1 y 3.2.2.

En el grupo CTRL, se encontró una correlación positiva entre los valores de Cistatina C y TFGe (0.33; $P < 0.05$), mientras que para GAS-1 y TFGe, la correlación fue negativa (-0.34; $P < 0.05$). En el grupo de pacientes con DMT2, los valores de KIM-1 tuvieron una correlación

negativa con TFGe (-0.43; P<0.001). Los participantes que fueron diagnosticados con NFD presentaron una correlación positiva entre NGAL y la TFGe (0.30; P<0.05).

Por otro lado, al comparar las concentraciones de la proteína GAS-1 en orina, con el resto de los biomarcadores, vemos que existe una correlación positiva marginal entre ellos estadísticamente significativa, como se muestra en la tabla 3.6.3.

Tabla 3.2.1 Análisis de correlación entre la concentración de glucosa sérica y las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC

n=114	Glucosa	
Variable	r^P	p
KIM-1 (ng/mgCr)	0.04969	0.6199
NGAL (ng/mgCr)	-0.1318	0.1868
Cys-C (ng/mgCr)	-0.1712	0.0779
α - 1 MG (ng/mgCr)	-0.06359	0.5152
GAS-1 (pg/mgCr)	-0.09083	0.3738

Todos los valores fueron elevados a Log10 y ajustados por CrU. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.

Tabla 3.2.2 Análisis de correlación de la TFGe con respecto a las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.

n=114	TFGe	
Variable	r^P	p
KIM-1 (ng/mgCr)	-0.3945	<0.0001
NGAL (ng/mgCr)	-0.5435	<0.0001
Cys-C (ng/mgCr)	-0.3714	<0.0001
α - 1 MG (ng/mgCr)	-0.4741	<0.0001
GAS-1 (pg/mgCr)	-0.6699	<0.0001

Todos los valores fueron elevados a Log10 y ajustados por CrU. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.

Tabla 3.2.3 Análisis de correlación entre GAS-1 y las concentraciones urinarias de los demás biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC.

n=114	GAS-1	
Variable	r^P	p
KIM-1 (ng/mgCr)	0.5783	<0.0001
NGAL (ng/mgCr)	0.5794	<0.0001
Cys-C (ng/mgCr)	0.5805	<0.0001
α-1 MG (ng/mgCr)	0.5904	<0.0001

Todos los valores fueron elevados a Log10 y ajustados por CrU. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.

7. DISCUSION

En este trabajo, se evaluó la relación entre los biomarcadores de daño renal temprano, la proteína GAS-1 y la TFGe en una población humana adulta con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera. Los resultados muestran la presencia de la proteína GAS-1 en orina en esta población, así como una correlación positiva débil entre esta proteína y el resto de los biomarcadores de daño renal temprano analizados en este estudio, y una elevación estadísticamente significativa de todos ellos a medida que la TFGe disminuye. Debido a que ésta última determina el grado de daño renal que presenta un determinado individuo, podemos confirmar que, a medida que se incrementa la ERC, existe también una elevación de los diferentes biomarcadores de daño renal y de la proteína GAS-1, las cuales son directamente proporcionales.

En estudios anteriores, se ha demostrado la presencia de la proteína GAS-1 en la orina de ratones (1.8-2 ng/ μ mol), así como la presencia de ésta en biopsias de individuos sanos y en pacientes así como en algunas glomerulopatías (Van Roeyen et al., 2013). En nuestra población estudiada, observamos la presencia de dicha proteína tanto en pacientes sanos, como en diabéticos y nefrópatas diabéticos en un intervalo de 2.03-2.62 pg/mgCrU, lo que confirma la presencia de GAS-1 también en orina de humanos sin factores de riesgo conocidos para ERC y aquellos con factores de riesgo como DMT2 y NFD. Como se mencionó anteriormente, GAS-1 reduce la fosforilación de RET, inhibe la activación de AKT ayudando a la sobrevivencia celular y, al mismo tiempo dispara la desfosforilación de BAD provocando la liberación del citocromo C desde la mitocondria al citosol activando la caspasa-9, promoviendo la actividad de la caspasa-3 y dando como resultado la apoptosis de las células (Zarco et al., 2012). También participa en la regulación de la proliferación celular (Zhang et al., 2014). Todas estas características sugieren una posible participación de GAS-1 en mecanismos de respuesta al daño celular controlando la proliferación y la muerte celular. Estas características son comunes a varias moléculas usadas como biomarcadores de diagnóstico temprano para el daño renal (Ortega and Hueng, 2018) y sugieren fuertemente que GAS-1 podría jugar el papel de un nuevo biomarcador complementario a los existentes.

Tanto el plasma como la orina son fuentes importantes para medición de biomarcadores; sin embargo, es ésta última la que puede ser obtenida más fácilmente a través de métodos no invasivos y permite monitorear varios procesos fisiopatológicos en el organismo humano. A pesar de estas ventajas, dichas muestras urinarias pueden mostrar variabilidad en cuanto a volumen, concentración de proteínas (en nuestro caso las de interés como los biomarcadores de daño renal), pH, entre otros, por lo cual se hace necesaria la normalización

de las concentraciones de los biomarcadores en la orina y de esta forma reducir la variabilidad biológica (Thomas et al., 2010), especialmente en muestras obtenidas por micción espontánea, como es el caso de las muestras de nuestro estudio, ya que éstas pueden estar alteradas por el consumo y excreción de agua (Brott et al., 2014). Como ya mencionamos con anterioridad, nuestras muestras fueron obtenidas de la primera micción del día (por la mañana, después de dormir). Los biomarcadores se analizaron de dos formas: sin normalizar y normalizados por creatinina urinaria. Dado que los resultados de nuestro estudio no mostraron gran variabilidad entre los grupos estudiados, ni entre las TFGe ni entre los biomarcadores de daño renal, entre las muestras normalizadas como aquellas sin normalizar (ver tablas del apéndice), decidimos reportarlos ajustados por creatinina urinaria.

En varios estudios se ha cuestionado el uso de la CrU para la normalización de los biomarcadores, argumentando que es un parámetro normalmente alterado durante los procesos de disfunción renal, y que esto repercute en alteraciones en la estimación de la TFGe (Waikar et al., 2010) y por lo tanto una infra o supraestimación de los biomarcadores. De igual forma, se pone en tela de juicio la recolección de la orina en 24 horas y la de la primera de la mañana; sin embargo varios estudios determinaron que no existe gran variabilidad (Thomas et al., 2010; Witte et al., 2009) e incluso algunos apoyan mejor el uso de la primera del día (Lambers Heerspink et al., 2010). Tomando en cuenta que los participantes de nuestros estudios presentan comorbilidades como DMT2 y obesidad, los biomarcadores normalizados aportan la mejor opción para disminuir esta variabilidad de la que hablamos antes. Aun así, y como no existe un consenso internacional acerca de esta normalización y sobre cuál sería el mejor método, estamos conscientes que se necesitan mayores estudios sobre este tema para poder establecer conclusiones definitivas.

Históricamente, la literatura clínica sugiere que la TFGe es el mejor índice para valorar la función en la ERC (Rahman and Smith, 1998); ésta se mide a través de la tasa de aclaramiento en plasma de un marcador de función renal. Los valores normales van de 130 mL/min/1.73m² para los hombres y de 120 mL/min/1.73m² para mujeres, valores que van en decremento conforme uno envejece (Astor et al., 2011). Una TFGe <60 mL/min/1.73m² se ha seleccionado como valor de corte para definir la ERC, ya que representa aproximadamente una reducción de más de la mitad del valor normal de filtrado glomerular (Bardají and Martínez-Vea, 2008). Este valor se asocia a la detección de anomalías características de la ERC, además del aumento de la prevalencia y de la severidad de los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, las moléculas usadas para la medición de la TFGe consideradas como estándares de oro son también poco prácticas, caras e invasivas; por esto la TFGe es

estimada a través de ecuaciones que usan marcadores endógenos de la filtración y factores demográficos, existen tres ecuaciones validadas para la estimación de la TFG_e; en nuestro estudio hemos usado la de Cockcroft-Gault. Para nuestra población, encontramos TFG_e estimadas por dicha fórmula que van desde 85.77 hasta 24.23 mL/min/1.73m². Consideramos aquellos con TFG_e aceptablemente conservada a los que presentaron una tasa de >60mL/min/1.73m², y aquellos con ERC bien establecida, cuando la TFG_e fue <60mL/min/1.73m², de acuerdo con lo reportado en los estudios anteriormente mencionados. De esta manera, tenemos en nuestro estudio a 37 sujetos sanos con un promedio de TFG_e de 98.3 (DE: 43.27). Al observar nuestra desviación estándar notamos que hay disminución en la TFG_e de estos sujetos considerados como sanos y esto mismo ya los ubica dentro de alguno de los estadios de ERC. Sugerimos que este resultado podría deberse a que la población de estudio pertenece a una de las regiones del país que presenta factores de riesgo para ERC, particularmente la exposición a metales pesados, lo que se ha reportado su asociación con ERC en varios estudios epidemiológicos, principalmente en niños (Cárdenas-González et al., 2016; Jimenez Cordoba, 2014); cabe la posibilidad de que esta población esté cursando ya con ERC, probablemente asociada a este factor de riesgo; aunque hacen faltan estudios donde se explore esta asociación en una población adulta.

Se encontraron 38 sujetos diabéticos sin nefropatía con un promedio de TFG_e de 84.77 (DE: 47.99), en los que también observamos ya cierto estadio de nefropatía, probablemente relacionada con el tiempo de evolución con DMT2 ya que ninguno de estos pacientes diabéticos fue de reciente diagnóstico sino de seguimiento. Hay evidencias clínicas que indican que la diabetes puede ser considerada una situación de alto riesgo para enfermedad nefrocardiovascular, afectando a la gran mayoría de los diabéticos con más de 10 años de evolución (documentado en las guías internacionales como K/DOQI). Si además se acompaña de complicaciones macro o microvasculares con más tiempo del diagnóstico, estamos hablando de riesgo de enfermedad nefrovascular muy elevado (ADA, 2012; Ascaso et al., 2009). La DMT2 puede no ser diagnosticada hasta que pasan varios años, esto puede generar una prevalencia aumentada de NFD (Deshpande et al., 2008). Sin embargo, para esta población fue imposible determinar dicha asociación ya que no contamos con esa variable (tiempo de evolución de la enfermedad). Finalmente, están los 39 sujetos con nefropatía y diabetes con una TFG_e promedio de 24.23 (DE: 24.25), en los que vemos que ya están claramente cursando con ERC establecida.

El riñón tiene capacidad de repararse básicamente mediante tres mecanismos de compensación ante un daño: migración, proliferación y reparación de las células componiendo

las estructuras responsables de la función normal a través de dichos procesos se regula la filtración, secreción o expresión de diversas proteínas (KIM-1, Cys-C, NGAL) las cuales se pueden determinar y cuantificar para su uso como biomarcadores de daño renal (Van Vleet and Schnellmann, 2003). En nuestro estudio, las concentraciones urinarias de KIM-1, NGAL y Cistatina C, se encuentran elevadas en aquellas muestras de orina de pacientes con factores de riesgo para ERC y aún más en aquellos con ERC ya establecida; como también han sido reportados en otros estudios (Zeng et al., 2017), donde evalúan NGAL y Cys-C, además de Clusterina para determinar si éstos aparecen de forma más temprana en ERC que la microalbuminuria y donde se encontró que dichos biomarcadores fueron más elevados en pacientes con ERC ya establecida y que éstos son muy prometedores para diagnóstico de ERC en pacientes DMT1 y además, para NGAL y Cys-C que aumentan sus valores incluso antes que aparezca microalbuminuria.

Nuestros resultados muestran que existe una correlación positiva débil entre la proteína GAS-1 y los diferentes biomarcadores de daño renal en una población con factores de riesgo para ERC, como ya se mencionó en otro estudio (Zeng et al., 2017) de 146 pacientes y donde se encontraron concentraciones elevadas de los biomarcadores en pacientes con ERC y de igual forma encontraron una correlación positiva pero entre la microalbuminuria y el tiempo de diagnóstico de DMT1. Sin embargo, en un estudio realizado con pacientes tomados de una cohorte y seguidos durante 6 años (Panduru et al., 2015), se encontró una asociación inversa entre las concentraciones urinarias de KIM-1 con baja TFGe, al igual que en nuestro estudio, donde también se demuestra un comportamiento similar de GAS-1 con el resto de los biomarcadores, incluyendo a KIM-1; lo cual, concluyeron los autores, es aceptable para representar causalidad. En otro estudio de mayor tamaño, en donde fueron tomados participantes de 5 cohortes con factores de riesgo para ERC, las concentraciones urinarias de KIM-1 fueron más altas en pacientes con TFGe baja, así como encontraron diferencias entre los diferentes factores de riesgo para ERC, lo que concuerda también en lo hallado en nuestro estudio, aunque cabe mencionar que tiene un diseño diferente (Waikar et al., 2010).

Como ya se ha reportado en muchos estudios (Ferenbach and Bonventre, 2016), la concentración urinaria de KIM-1 está presente en baja cantidad en riñones de individuos aparentemente sanos y las concentraciones de dicha molécula se elevan de forma secundaria a un daño por hipoxia, lo cual culmina en la generación de fibrosis intersticial renal; esto podría explicar el comportamiento de las concentraciones urinarias más bajas de KIM-1 en controles y diabéticos en nuestro estudio. Sin embargo, KIM-1 se eleva en pacientes con ERC, como ya se reportó (Ferenbach and Bonventre, 2016). Como GAS-1 está presentando un

comportamiento similar al del resto de los biomarcadores de daño renal, asumimos que la tendencia es que, GAS-1 al igual que el resto de los biomarcadores de daño renal conocidos, se comienza a elevar en los pacientes con DMT2 sin daño renal establecido, probablemente por la misma fisiopatología explicada por Bonventre, y se halla aún más elevados en los pacientes con ERC ya establecido (Ferenbach and Bonventre, 2016).

Finalmente, y a pesar de los resultados prometedores de nuestro estudio en relación a los diferentes biomarcadores de daño renal y de la proteína GAS-1, éstos aún no pueden competir con los biomarcadores actuales para diagnóstico de daño renal y progresión, como lo son CrS y microalbuminuria. Otros estudios han concluido que estos biomarcadores, estuvieron fuertemente asociados con la progresión de ERC en un análisis no ajustado mediante estadísticos C, pero que sin embargo, no hubo ninguna asociación independiente después de ajustar por TFGe, radio Alb/Cr y otros factores de riesgo establecidos para progresión de ERC (Hsu et al., 2017; Waikar et al., 2010).

8. Limitaciones y fortalezas del estudio

La mayor fortaleza de nuestro estudio, equiparable al de otros estudios reportados en la literatura mundial es que, nuestros participantes tienen un amplio rango de la función renal, así como la comorbilidad agregada de la DMT2 y que es la primera vez que se estudia en una población de un estado de la república mexicana este tipo de correlación.

Dentro de las debilidades la encontramos básicamente en nuestro diseño metodológico: es un estudio transversal, en el que solamente se realiza una medición en el tiempo en el cual evaluamos tanto efecto y exposición, lo que nos impide establecer causalidad; la elección de la población y la división de la muestra; el no incluir en nuestros criterios el tiempo de evolución de la enfermedad, en el caso de la DMT2 y de aquellos con enfermedad renal ya conocida y probablemente la falta de medición de microalbuminuria, para poder realizar otras estimaciones con nuestros biomarcadores y con la nueva proteína que estamos estudiando, por mencionar algunas.

9. CONCLUSIONES

1. GAS-1 está presente en orina de pacientes que presentan factores de riesgo para ERC, siendo más elevada su concentración en aquellos que ya tienen una ERC establecida.
2. No existe variación significativa entre la relación de la TFGe y los diferentes biomarcadores de daño renal, así como de la proteína GAS-1 en muestras sin normalizar y normalizadas por creatinina urinaria.
3. Las concentraciones urinarias de todos los biomarcadores de daño renal temprano se encuentran elevados en muestras de orina de pacientes con factores de riesgo para ERC, y aún más elevados en aquellos con ERC ya diagnosticada, de forma directamente proporcional al grado de ERC, observándose una clara tendencia al incremento de éstos también en el grupo de pacientes que tienen un factor de riesgo para ERC ya establecida.
4. Existe una correlación positiva significativa entre la proteína GAS-1 y los diferentes biomarcadores de daño renal (estadísticamente significativa) en una población con factores de riesgo para ERC.

10. PERSPECTIVAS

1. Establecer la asociación entre la progresión de la ERC y los diferentes biomarcadores de daño renal temprano y tradicionales, así como de la proteína GAS-1, de acuerdo con el tiempo de evolución de la DMT2.
2. Estudiar la asociación entre la exposición de metales pesados y algunos biomarcadores de daño renal, incluyendo a la proteína GAS-1, con el desarrollo de ERC y algunas complicaciones asociadas a ésta como las cardiovasculares.
3. Evaluar el valor pronóstico de la asociación de los biomarcadores de daño renal tradicionales y la proteína GAS-1 para diagnóstico temprano y progresión de la ERC.
4. Establecer el efecto de la exposición ambiental a metales pesados en este tipo de población, para el desarrollo y progresión de la ERC a través de los biomarcadores de daño renal temprano y los tradicionales, y de la proteína GAS-1.

5. Como sabemos, los biomarcadores pueden ayudar a distinguir entre los diferentes subtipos de ERC, así como determinar cierto grado de progresión y pronóstico para esta enfermedad; por lo tanto, estos hallazgos podrían proveer información para el diseño de futuros estudios relacionados con pronóstico y progresión de la ERC, que cuenten con un diseño metodológico que les provea de mayor poder estadístico.

11. REFERENCIAS

1. Abbud-Filho, M., Adams, P.L., Alberu, J., Cardella, C., Chapman, J., Cochat, P., Cosio, F., Danovitch, G., Davis, C., Gaston, R.S., *et al.* (2007). A report of the Lisbon Conference on the care of the kidney transplant recipient. *Transplantation* 83, S1-22.
2. ADA (2012). Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes Care* 35, S11.
3. Ahlstrom, A., Tallgren, M., Peltonen, S., and Pettila, V. (2004). Evolution and predictive power of serum cystatin C in acute renal failure. *Clin Nephrol* 62, 344-350.
4. Allen, B.L., Tenzen, T., and McMahon, A.P. (2007). The Hedgehog-binding proteins Gas1 and Cdo cooperate to positively regulate Shh signaling during mouse development. *Genes & development* 21, 1244-1257.
5. Amato, D., Alvarez-Aguilar, C., Castaneda-Limones, R., Rodriguez, E., Avila-Diaz, M., Arreola, F., Gomez, A., Ballesteros, H., Becerril, R., and Paniagua, R. (2005). Prevalence of chronic kidney disease in an urban Mexican population. *Kidney International* 68, S11-S17.
6. Ascaso, J.F., Aguillo, E., Araujo, D., Becerra, A., Calvo, F., and Carmena, R. (2009). Diabetes mellitus y riesgo cardiovascular. Recomendaciones del grupo de trabajo diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular de la Sociedad Española de Diabetes 2009. *Diabetes Av Diabetol* 25, 449-454.
7. Astor, B.C., Matsushita, K., Gansevoort, R.T., Van Der Velde, M., Woodward, M., Levey, A.S., De Jong, P.E., Coresh, J., and Consortium, C.K.D.P. (2011). Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with mortality and end-stage renal disease. A collaborative meta-analysis of kidney disease population cohorts. *Kidney International* 79, 1331-1340.
8. Barbier, O.C. (2009). Insuficiencia renal por metales pesados. Efecto nefrotóxico de los metales pesados y su reabsorción/eliminación por el riñón. *Bioquímica* 34.
9. Bardají, A., and Martínez-Vea, A. (2008). Enfermedad renal crónica y corazón. Un continuo evolutivo. *Revista Española de Cardiología* 61, 41-51.

10. Barendregt, J.J., Van Oortmarssen, G.J., Vos, T., and Murray, C.J. (2003). A generic model for the assessment of disease epidemiology: the computational basis of DisMod II. *Popul Health Metr* 1, 4.
11. Bolignano, D., Coppolino, G., Campo, S., Aloisi, C., Nicocia, G., Frisina, N., and Buemi, M. (2007). Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with severity of renal disease in proteinuric patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* 23, 414-416.
12. Brott, D.A., Adler, S.H., Arani, R., Lovick, S.C., Pinches, M., and Furlong, S.T. (2014). Characterization of renal biomarkers for use in clinical trials: biomarker evaluation in healthy volunteers. *Drug design, Development and Therapy* 8, 227.
13. Cabrera, J.R., Sanchez-Pulido, L., Rojas, A.M., Valencia, A., Mañes, S., Naranjo, J.R., and Mellström, B. (2006). Gas1 is related to the glial cell-derived neurotrophic factor family receptors α and regulates Ret signaling. *Journal of Biological Chemistry* 281, 14330-14339.
14. Cabrera, S.S. (2004). Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de enfermedad renal crónica. *Nefrología* 24, 27-34.
15. Cárdenas-González, M., Osorio-Yáñez, C., Gaspar-Ramírez, O., Pavković, M., Ochoa-Martínez, A., López-Ventura, D., Medeiros, M., Barbier, O., Pérez-Maldonado, I., and Sabbisetti, V. (2016). Environmental exposure to arsenic and chromium in children is associated with kidney injury molecule-1. *Environmental Research* 150, 653-662.
16. Carlsson, A.C., Calamia, M., Risérus, U., Larsson, A., Helmersson-Karlqvist, J., Lind, L., and Ärnlöv, J. (2014). Kidney injury molecule (KIM)-1 is associated with insulin resistance: results from two community-based studies of elderly individuals. *Diabetes Research and Clinical Practice* 103, 516-521.
17. Carlsson, A.C., Larsson, A., Helmersson-Karlqvist, J., Lind, L., Ingelsson, E., Larsson, T.E., Sundström, J., and Ärnlöv, J. (2013). Urinary kidney injury molecule 1 and incidence of heart failure in elderly men. *European Journal of Heart Failure* 15, 441-446.
18. Collins, A.J., Kasiske, B., Herzog, C., Chavers, B., Foley, R., Gilbertson, D., Grimm, R., Liu, J., Louis, T., Manning, W., *et al.* (2007). Excerpts from the United States Renal Data System 2006 Annual Data Report. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 49, A6-7, S1-296.
19. Cueto-Manzano, A.M., Cortés-Sanabria, L., Martínez-Ramírez, H.R., Rojas-Campos, E., Gómez-Navarro, B., and Castellero-Manzano, M. (2014). Prevalence of chronic kidney disease in an adult population. *Archives of Medical Research* 45, 507-513.

20. Dehesa-López, E., Pérez-Gutiérrez, R.A., Rafael Valdez-Ortiz, Morales-Buenrostro, L.E., and Correa-Rotter, R. (2009). Factores clínicos y de laboratorio relacionados con progresión a enfermedad renal crónica en pacientes con enfermedad renal poliquística autosómica dominante. *Revista de Investigación Clínica* 61, 364-370.
21. Del Sal, G., Ruaro, E.M., Utrera, R., Cole, C.N., Levine, A.J., and Schneider, C. (1995). Gas1-induced growth suppression requires a transactivation-independent p53 function. *Molecular and Cellular Biology* 15, 7152-7160.
22. Del Sal, G., Ruaro, M.E., Philipson, L., and Schneider, C. (1992). The growth arrest-specific gene, gas1, is involved in growth suppression. *Cell* 70, 595-607.
23. Deshpande, A.D., Harris-Hayes, M., and Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy* 88, 1254-1264.
24. Dharnidharka, V.R., Kwon, C., and Stevens, G. (2002). Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 40, 221-226.
25. Domínguez-Monzón, G., González-Ramírez, R., and Segovia, J. (2011). Molecular mechanisms of action of Gas1 and its possible therapeutic applications. *Current Signal Transduction Therapy* 6, 106-112.
26. Eknoyan, G. (2007). Chronic kidney disease definition and classification: the quest for refinements. *Kidney international* 72, 1183-1185.
27. ENSANUT (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición <https://ensanut.insp.mx/>.
28. Ferenbach, D.A., and Bonventre, J.V. (2016). Acute kidney injury and chronic kidney disease: From the laboratory to the clinic. *Nephrologie & therapeutique* 12 Suppl 1, S41-48.
29. García-García, G., Gutiérrez-Padilla, A.J., Chávez-Iñiguez, J., Pérez-Gómez, H.R., Mendoza-García, M., and Tonelli, M. (2013). Identifying undetected cases of chronic kidney disease in Mexico. Targeting high-risk populations. *Archives of Medical Research* 44, 623-627.
30. Gilbertson, D.T., Liu, J., Xue, J.L., Louis, T.A., Solid, C.A., Ebben, J.P., and Collins, A.J. (2005). Projecting the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2015. *Journal of the American Society of Nephrology* 16, 3736-3741.
31. Guterres, M.V., Volpe, P.O., and Ferreira, M.M. (2004). Multiway calibration for creatinine determination in human serum using the Jaffe reaction. *Appl Spectrosc* 58, 54-60.
32. Han, W.K., Bailly, V., Abichandani, R., Thadhani, R., and Bonventre, J.V. (2002). Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney International* 62, 237-244.

33. Herget-Rosenthal, S., Marggraf, G., Hüsing, J., Göring, F., Pietruck, F., Janssen, O., Philipp, T., and Kribben, A. (2004a). Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney International* 66, 1115-1122.
34. Herget-Rosenthal, S., Poppen, D., Hüsing, J., Marggraf, G., Pietruck, F., Jakob, H.-G., Philipp, T., and Kribben, A. (2004b). Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clinical chemistry* 50, 552-558.
35. Hong, C.-Y., Hughes, K., Chia, K.-S., Ng, V., and Ling, S.-L. (2003). Urinary α 1-microglobulin as a marker of nephropathy in type 2 diabetic Asian subjects in Singapore. *Diabetes Care* 26, 338-342.
36. Hsu, C.Y., Xie, D., Waikar, S.S., Bonventre, J.V., Zhang, X., Sabbisetti, V., Mifflin, T.E., Coresh, J., Diamantidis, C.J., He, J., *et al.* (2017). Urine biomarkers of tubular injury do not improve on the clinical model predicting chronic kidney disease progression. *Kidney Int* 91, 196-203.
37. Ichimura, T., Bonventre, J.V., Bailly, V., Wei, H., Hession, C.A., Cate, R.L., and Sanicola, M. (1998). Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry* 273, 4135-4142.
38. Inker, L.A., Schmid, C.H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J.H., Feldman, H.I., Greene, T., Kusek, J.W., Manzi, J., Van Lente, F., and Zhang, Y.L. (2012). Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *New England Journal of Medicine* 367, 20-29.
39. Israni, A.K. (2007). *Laboratory Assessment of Kidney Disease: Clearance, Urinalysis, and Kidney Biopsy*, 8th ed edn (Philadelphia, PA, USA: Saunders Elsevier).
40. Jiang, Z., Xu, Y., and Cai, S. (2011). Down-regulated GAS1 expression correlates with recurrence in stage II and III colorectal cancer. *Human Pathology* 42, 361-368.
41. Jimenez Cordoba, M.I. (2014). Evaluación de marcadores de daño renal temprano en una población expuesta a fluoruro a través del agua de bebida. In *Toxicología* (Cinvestav-IPN).
42. Kann, M., Bae, E., Lenz, M.O., Li, L., Trannguyen, B., Schumacher, V.A., Taglienti, M.E., Bordeianou, L., Hartwig, S., and Rinschen, M.M. (2015). WT1 targets Gas1 to maintain nephron progenitor cells by modulating FGF signals. *Development* 142, 1254-1266.
43. Kasiske, B.L. (2007). Dialysis facility ownership and epoetin dosing in hemodialysis patients: a US physician perspective. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 50, 354-357.

44. Kawai, T., and Takagi, K. (1982). Human alpha 1-microglobulin. Its physiochemical properties and clinical significance. *Asian Med J* 25, 251-270.
45. KDOQI (2002). Kidney Disease Outcomes Quality Initiative <https://www.kidney.org/professionals/guidelines>.
46. KEEP (2008). National Kidney Foundation <https://www.kidney.org/keephealthy>.
47. Kusano, E., Suzuki, M., Asano, Y., Itoh, Y., Takagi, K., and Kawai, T. (1985). Human α 1-microglobulin and its relationship to renal function. *Nephron* 41, 320-324.
48. Lambers Heerspink, H.J., Gansevoort, R.T., Brenner, B.M., Cooper, M.E., Parving, H.H., Shahinfar, S., and de Zeeuw, D. (2010). Comparison of different measures of urinary protein excretion for prediction of renal events. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 21, 1355-1360.
49. Lapouge, G., Millon, R., Muller, D., Abecassis, J., Eber, M., Bergerat, J., and Klein-Soyer, C. (2005). Cisplatin-induced genes as potential markers for thyroid cancer. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 62, 53-64.
50. Levey, A.S., Coresh, J., Bolton, K., Culleton, B., Harvey, K.S., Ikizler, T.A., Johnson, C.A., Kausz, A., Kimmel, P.L., and Kusek, J. (2002). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Diseases* 39.
51. Levey, A.S., Eckardt, K.-U., Tsukamoto, Y., Levin, A., Coresh, J., Rossert, J., Zeeuw, D.D., Hostetter, T.H., Lameire, N., and Eknoyan, G. (2005). Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney International* 67, 2089-2100.
52. Liangos, O., Perianayagam, M.C., Vaidya, V.S., Han, W.K., Wald, R., Tighiouart, H., MacKinnon, R.W., Li, L., Balakrishnan, V.S., Pereira, B.J., *et al.* (2007). Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 18, 904-912.
53. López-Cervantes, M., Rojas-Russell, M., Tirado-Gómez, L., Durán-Arenas, L., Pacheco-Domínguez, R., and Venado-Estrada, A. (2009). Enfermedad renal crónica y su atención mediante tratamiento sustitutivo en México. México: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
54. López-Ramírez, M.A., Domínguez-Monzón, G., Vergara, P., and Segovia, J. (2008). Gas1 reduces Ret tyrosine 1062 phosphorylation and alters GDNF-mediated intracellular signaling. *International Journal of Developmental Neuroscience* 26, 497-503.

55. Madden, E.F., and Fowler, B.A. (2000). Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations: a review. *Drug and Chemical Toxicology* 23, 1-12.
56. Marczewski, K., Krawczyk, W., Rózyk, P., Raszewski, G., Grzywna, R., and Klimek, K. (1996). Day/night ratio of microproteinuria and blood pressure rhythm in type II diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 33, 169-172.
57. Martinelli, D.C., and Fan, C.-M. (2007). Gas1 extends the range of Hedgehog action by facilitating its signaling. *Genes & Development* 21, 1231-1243.
58. Miller, R.C., Brindle, E., Holman, D.J., Shofer, J., Klein, N.A., Soules, M.R., and O'Connor, K.A. (2004). Comparison of specific gravity and creatinine for normalizing urinary reproductive hormone concentrations. *Clin Chem* 50, 924-932.
59. Naicker, S. (2011). Biomarkers of renal disease : refresher course. Paper presented at: Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia.
60. Nguyen, M.T., and Devarajan, P. (2008). Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 23, 2151-2157.
61. NHANES III National Health and Nutrition Examination Survey
62. Nickolas, T.L., Barasch, J., and Devarajan, P. (2008). Biomarkers in acute and chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 17, 127-132.
63. Obrador, G.T., García-García, G., Villa, A.R., Rubilar, X., Olvera, N., Ferreira, E., Virgen, M., Gutiérrez-Padilla, J.A., Plascencia-Alonso, M., and Mendoza-García, M. (2010). Prevalence of chronic kidney disease in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) Mexico and comparison with KEEP US. *Kidney International* 77, S2-S8.
64. Ortega, L.M., and Hueng, M. (2018). The use of cell cycle arrest biomarkers in the early detection of acute kidney injury. Is this the new renal troponin? *Nefrología*.
65. Panduru, N.M., Sandholm, N., Forsblom, C., Saraheimo, M., Dahlstrom, E.H., Thorn, L.M., Gordin, D., Tolonen, N., Waden, J., Harjutsalo, V., *et al.* (2015). Kidney injury molecule-1 and the loss of kidney function in diabetic nephropathy: a likely causal link in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 38, 1130-1137.
66. Parikh, C.R., Abraham, E., Ancukiewicz, M., and Edelstein, C.L. (2005). Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *Journal of the American Society of Nephrology* 16, 3046-3052.
67. Parikh, C.R., Jani, A., Melnikov, V.Y., Faubel, S., and Edelstein, C.L. (2004). Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *American Journal of Kidney Diseases* 43, 405-414.

68. Parikh, C.R., Moledina, D.G., Coca, S.G., Thiessen-Philbrook, H.R., and Garg, A.X. (2016). Application of new acute kidney injury biomarkers in human randomized controlled trials. *Kidney International* 89, 1372-1379.
69. Patel, T.V., and Singh, A.K. (2009). Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI GUIDELINES) for Bone and Mineral Metabolism: Emerging Questions. *Seminars in nephrology* 29, 105-112.
70. Penders, J., and Delanghe, J.R. (2004). Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clinica Chimica Acta* 346, 107-118.
71. Rahman, M., and Smith, M.C. (1998). Chronic renal insufficiency: a diagnostic and therapeutic approach. *Archives of Internal Medicine* 158, 1743-1752.
72. Rizzi, F., Belloni, L., Crafa, P., Lazzaretti, M., Remondini, D., Ferretti, S., Cortellini, P., Corti, A., and Bettuzzi, S. (2008). A novel gene signature for molecular diagnosis of human prostate cancer by RT-qPCR. *PLoS one* 3, e3617.
73. Segovia, J., and Zarco, N. (2014). Gas1 is a pleiotropic regulator of cellular functions: from embryonic development to molecular actions in cancer gene therapy. *Mini reviews in medicinal chemistry* 14, 1139-1147.
74. Slocum, J.L., Heung, M., and Pennathur, S. (2012). Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? *Translational Research* 159, 277-289.
75. Stevens, L.A., Coresh, J., Schmid, C.H., Feldman, H.I., Froissart, M., Kusek, J., Rossert, J., Van Lente, F., Bruce, R.D., and Zhang, Y.L. (2008). Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *American journal of kidney diseases* 51, 395-406.
76. Thomas, C.E., Sexton, W., Benson, K., Sutphen, R., and Koomen, J. (2010). Urine collection and processing for protein biomarker discovery and quantification. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 19, 953-959.
77. USRD (2007). Chronic kidney disease. United States Renal Data System 2007 Annual Data Report. <http://www.usrds.org/adr.htm>.
78. Vaidya, V.S., Ozer, J.S., Dieterle, F., Collings, F.B., Ramirez, V., Troth, S., Muniappa, N., Thudium, D., Gerhold, D., and Holder, D.J. (2010). Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nature Biotechnology* 28, 478.
79. Valdés Perezgasga, F. (1999). La contaminación por metales pesados en Torreón, Coahuila, México. <http://www.texascenter.org/publications/torreon.pdf>.

80. Van Roeyen, C.R., Zok, S., Pruessmeyer, J., Boor, P., Nagayama, Y., Fleckenstein, S., Cohen, C.D., Eitner, F., Gröne, H.-J., and Ostendorf, T. (2013). Growth arrest-specific protein 1 is a novel endogenous inhibitor of glomerular cell activation and proliferation. *Kidney International* 83, 251-263.

81. Van Timmeren, M.M., Van den Heuvel, M.C., Bailly, V., Bakker, S.J., van Goor, H., and Stegeman, C.A. (2007). Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology* 212, 209-217.

82. Van Vleet, T.R., and Schnellmann, R.G. (2003). Toxic nephropathy: environmental chemicals. *Seminars in nephrology* 23, 500-508.

83. Waikar, S.S., Sabbiseti, V.S., and Bonventre, J.V. (2010). Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. *Kidney International* 78, 486-494.

84. Wang, H., Zhou, X., Zhang, Y., Zhu, H., Zhao, L., Fan, L., Wang, Y., Gang, Y., Wu, K., and Liu, Z. (2012). Growth arrest-specific gene 1 is downregulated and inhibits tumor growth in gastric cancer. *The FEBS Journal* 279, 3652-3664.

85. Weber, M., Scholz, P., Stibbe, W., and Scheler, F. (1985). Alpha-1-mikroglobulin in Urin und Serum bei Proteinurie und Niereninsuffizienz. *Klinische Wochenschrift* 63, 711-717.

86. Witte, E.C., Lambers Heerspink, H.J., de Zeeuw, D., Bakker, S.J., de Jong, P.E., and Gansevoort, R. (2009). First morning voids are more reliable than spot urine samples to assess microalbuminuria. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 20, 436-443.

87. Zarco, N., González-Ramírez, R., González, R.O., and Segovia, J. (2012). GAS1 induces cell death through an intrinsic apoptotic pathway. *Apoptosis* 17, 627-635.

88. Zeng, X.F., Lu, D.X., Li, J.M., Tan, Y., Li, Z., Zhou, L., Xi, Z.Q., Zhang, S.M., and Duan, W. (2017). Performance of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, clusterin, and cystatin C in predicting diabetic kidney disease and diabetic microalbuminuria: a consecutive cohort study. *BMC nephrology* 18, 233.

89. Zhang, L., He, S., Guo, S., Xie, W., Xin, R., Yu, H., Yang, F., Qiu, J., Zhang, D., and Zhou, S. (2014). Down-regulation of miR-34a alleviates mesangial proliferation in vitro and glomerular hypertrophy in early diabetic nephropathy mice by targeting GAS1. *Journal of Diabetes and its Complications* 28, 259-264.

ANEXOS

Tabla A1.1 Análisis de correlación entre la concentración de Glucosa y las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera

Glucosa		
Variable	r^P	p
Kim-1 (ng/mL)	-0.1190	0.2310
NGAL (ng/mL)	-0.3262	0.0008
Cys C (ng/mL)	-0.2103	0.0289
Alfa 1 microglobulina (ng/mL)	-0.1561	0.1247
GAS-1 (pg/mL)	-0.0587	0.5459

Todos los valores fueron elevados a Log10 y no están ajustados con Creatinina urinaria. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.

Tabla A1.2 Análisis de correlación de la TFGe con respecto a las concentraciones urinarias de los biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera

Variable	TFGe	
	r ^P	p
Kim-1 (ng/mL)	-0.4739	<0.0001
NGAL (ng/mL)	-0.4967	<0.0001
Cys C (ng/mL)	-0.2888	0.0024
Alfa 1 microglobulina (ng/mL)	-0.5309	<0.0001
GAS-1 (pg/mL)	-0.3841	<0.0001

Todos los valores fueron elevados a Log10 y no están ajustados con la concentración de creatinina urinaria. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.

Tabla A1.3 Análisis de correlación entre GAS-1 y las concentraciones urinarias de los demás biomarcadores proteicos de daño renal en la población con factores de riesgo para desarrollo de ERC de la Comarca Lagunera

Variable	GAS-1	
	r ^P	p
Kim-1 (ng/mL)	0.4707	<0.0001
NGAL (ng/mL)	0.4687	<0.0001
Cys C (ng/mL)	0.5062	<0.0001
Alfa 1 microglobulina (ng/mL)	0.5062	<0.0001

Todos los valores fueron elevados a Log10 y no están ajustados con Creatinina urinaria. KIM-1: Kidney Injury Molecule-1; NGAL: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin; GAS-1: Growth Arrest-Specific protein 1; Cys C: Cistatina C. r^P Correlación de Pearson.