

ORIGINAL

Asociación entre el polimorfismo rs2032487 del gen de la cadena pesada de la miosina no muscular tipo IIA (*MHY9*) y la enfermedad renal crónica secundaria a diabetes tipo 2 en población de las Islas Canarias



Mauro Boronat^{a,b,*}, Antonio Tugores^c, Pedro Saavedra^d, Paloma Garay^c, Elvira Bosch^e, Dionisio Lorenzo^f y César García-Cantón^e

^a Sección de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Insular, Las Palmas de Gran Canaria, España

^b Instituto de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

^c Unidad de Investigación, Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil, Las Palmas de Gran Canaria, España

^d Departamento de Matemáticas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

^e Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Insular, Las Palmas de Gran Canaria, España

^f Universidad Fernando Pessoa Canarias, Santa María de Guía, Las Palmas, España

Recibido el 19 de agosto de 2018; aceptado el 17 de enero de 2019

Disponible en Internet el 4 de abril de 2019

PALABRAS CLAVE

Diabetes tipo 2;
Enfermedad renal crónica;
Nefropatía diabética;
MHY9;
APOL1;
Polimorfismo

Resumen

Introducción: Ciertos polimorfismos de los genes de la miosina no muscular de tipo IIA (*MHY9*) y de la apolipoproteína L1 (*APOL1*) se han asociado con la enfermedad renal crónica (ERC) en distintas poblaciones. Este estudio evaluó la asociación entre los polimorfismos rs2032487 de *MHY9* y rs73885319 de *APOL1* con la ERC avanzada asociada a diabetes tipo 2 en una población de Gran Canaria.

Material y métodos: Los polimorfismos se genotiparon en 152 pacientes con ERC avanzada (filtrado glomerular estimado [FGe] < 30 ml/min/1,73 m²) secundaria a diabetes tipo 2, 110 pacientes con diabetes tipo 2 con evolución ≥ 20 años sin ERC avanzada (FGe ≥ 45 ml/min/1,73 m² y ausencia de proteinuria) y 292 hemodonantes sanos de más de 50 años sin ERC ni diabetes.

Resultados: La frecuencia del alelo de riesgo de rs2032487 fue de 10,7% entre pacientes con diabetes y ERC avanzada, 7,1% en aquellos con diabetes sin ERC avanzada y 6,1% en los sujetos sanos, alcanzándose diferencias significativas entre el primer y el tercer grupo (P = 0,015). El 78,5% de los sujetos con ERC avanzada eran homocigotos para el alelo protector, frente al 87,9% en los otros dos grupos (P = 0,015 y P = 0,016, respectivamente). La frecuencia del alelo de riesgo del polimorfismo rs73885319 no superó el 0,5% en ninguno de los tres grupos.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mborcor@yahoo.es (M. Boronat).

KEYWORDS

Type 2 diabetes mellitus;
Chronic kidney disease;
Diabetic nephropathy;
MYH9;
APOL1;
Polymorphism

Conclusiones: Estos datos sugieren que el polimorfismo rs2032487 se asocia con la ERC avanzada asociada a diabetes tipo 2 en la población de Gran Canaria.

© 2019 SEEN y SED. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Association between polymorphism rs2032487 in the non-muscle myosin heavy chain IIA gene (*MYH9*) and chronic kidney disease secondary to type 2 diabetes mellitus in a population of the Canary Islands

Abstract

Introduction: Certain polymorphisms in the non-muscle myosin IIA (*MYH9*) and apolipoprotein L1 (*APOL1*) genes have been associated to chronic kidney disease (CKD) in different populations. This study examined the association between the *MYH9* rs2032487 and *APOL1* rs73885319 polymorphisms and advanced CKD related to type 2 diabetes mellitus (T2DM) in a population of Gran Canaria (Canary Islands, Spain).

Patients and methods: Polymorphisms were genotyped in 152 patients with advanced CKD (estimated glomerular filtration rate [eGFR] < 30 mL/min/1.73 m²) secondary to T2DM, 110 patients with T2DM onset ≥ 20 years before without advanced CKD (eGFR ≥ 45 mL/min/1.73 m² and no proteinuria), and 292 healthy blood donors over 50 years of age without CKD or diabetes.

Results: The frequency of the risk allele for rs2032487 was 10.7% in patients with diabetes and advanced CKD, 7.1% in those with diabetes but without advanced CKD, and 6.1% in healthy subjects, with significant differences between the first and third groups (P = .015). Among subjects with advanced CKD, 78.5% were homozygous for the protective allele, as compared to 87.9% in the other two groups (P = .015 and P = .016 respectively). The frequency of the risk allele for the rs73885319 polymorphism did not exceed 0.5% in any of the three groups.

Conclusions: These data suggest that polymorphism rs2032487 is associated to advanced CKD related to T2DM in the population of Gran Canaria.

© 2019 SEEN y SED. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La diabetes mellitus tipo 2 es la causa más frecuente de enfermedad renal crónica (ERC) terminal en países occidentales. En las Islas Canarias, en particular, la incidencia de ERC terminal asociada a diabetes es desproporcionadamente elevada¹. De acuerdo con cálculos realizados sobre la población estimada con diabetes en distintas comunidades autónomas españolas, el riesgo de requerir tratamiento renal sustitutivo entre personas residentes en Canarias es entre 3 y 5 veces más alto que el de personas que viven en otras zonas de España².

Las causas de esta alta incidencia son desconocidas, aunque se ha especulado sobre la posible implicación de factores genéticos hasta ahora no identificados³. En este sentido, el análisis de marcadores genéticos uniparentales (ADN mitocondrial y cromosoma Y)^{4,5}, elementos móviles de ADN autosómico (secuencias Alu)⁶ y haplotipos del antígeno leucocitario humano^{5,7}, sugieren que los habitantes de las Islas Canarias proceden del mestizaje de los aborígenes del archipiélago (mezcla, a su vez, de poblaciones del norte de África y del occidente asiático) con los colonizadores europeos principalmente originarios de la Península Ibérica, más una pequeña contribución genética de origen subsahariano, probablemente aportada por descendientes de individuos de raza negra llevados a las islas como esclavos.

Existen pocos datos epidemiológicos sobre la ERC en África, especialmente debido a la escasez de registros de enfermos en tratamiento renal sustitutivo, y la mayor parte de los casos diagnosticados son de etiología desconocida^{8,9}. Sin embargo, a partir sobre todo de los estudios realizados en población afroamericana de Estados Unidos, se sabe que los individuos de raza negra tienen un mayor riesgo de desarrollar ERC, y que al menos parte de ese riesgo podría ser conferido por variantes de dos genes adyacentes localizados en el cromosoma 22q13: el gen que codifica la cadena pesada de la miosina no muscular de tipo IIA (*MYH9*) y el gen de la apolipoproteína L1 (*APOL1*). La identificación del gen *MYH9* como un locus de susceptibilidad para la ERC fue un hallazgo de estudios de asociación del genoma completo en individuos afroamericanos, que relacionaron diferentes polimorfismos de este gen, fundamentalmente las cuatro variantes intrónicas que conforman el denominado haplotipo E1, con ciertas formas de ERC, tales como la nefroangiosclerosis hipertensiva, la glomeruloesclerosis focal y segmentaria y la nefropatía asociada a infección por VIH^{10,11}. Posteriormente, sin embargo, otros grupos reportaron que la ERC en estas poblaciones estaba más fuertemente ligada con variantes del gen *APOL1*^{12,13}, las cuales se encuentran en desequilibrio de ligamiento con las de *MYH9*, y con el haplotipo E1 en particular, sugiriendo que la asociación entre el gen *MYH9* y la ERC podría ser explicada, en realidad, por las variantes en *APOL1*.

El presente estudio es una investigación de carácter exploratorio, dirigida a estimar las frecuencias alélicas de dos polimorfismos de una sola base, previamente ligados a ERC, de los genes *MYH9* y *APOL1* (rs2032487 y rs73885319, respectivamente) en el área Sur de la isla de Gran Canaria, una zona en la que la población resulta del mestizaje de rasgos genéticos europeos y africanos, para evaluar también su posible relación con la presencia de ERC avanzada asociada a diabetes tipo 2.

Material y métodos

Sujetos. Los sujetos del estudio son participantes en el estudio CERCA-Diabetes (Caracterización de la Enfermedad Renal Crónica Asociada a Diabetes), un proyecto dirigido a caracterizar la población con ERC asociada a diabetes tipo 2 en el área Sur de la isla de Gran Canaria. Se incluyeron como casos con ERC secundaria a diabetes tipo 2 a los 152 pacientes remitidos por primera vez a la consulta monográfica de ERC avanzada del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria entre febrero de 2011 y febrero de 2015, en los que el filtrado glomerular estimado (FGe) era inferior a 30 ml/min/1,73 m² según la fórmula *Modification of Diet of Renal Disease* (MDRD-4) y en los que se había establecido que la causa principal de la ERC era la diabetes. Como grupo control se incluyó a 110 pacientes con diabetes tipo 2, reclutados en la Sección de Endocrinología y Nutrición del mismo centro, que cumplían los siguientes criterios: evolución de más de 20 años desde el diagnóstico de diabetes, FGe \geq 45 ml/min/1,73m² y excreción urinaria de albúmina menor de 300 mg/g de creatinina en orina de la primera micción de la mañana o menor de 300 mg en muestra de orina de 24 h.

Adicionalmente también se analizaron los mismos polimorfismos en una colección de muestras de ADN procedentes de 292 hemodonantes sanos de 50 o más años de edad, sin diabetes ni ERC.

Protocolo de estudio. Tras ayuno de 9 h, los participantes entregaron muestras de sangre, orina de la primera micción de la mañana y orina de 24 h. Posteriormente cumplimentaron un cuestionario de recogida de datos, que comprendía su historia médica familiar y personal, estilo de vida y tratamiento médico. Finalmente se sometieron a un examen físico que incluía el registro de medidas antropométricas y la medida de la presión arterial, tomada dos veces, en posición de sedestación, por espacio de 10 min. Se calculó la media de las dos lecturas para los análisis estadísticos.

Se aceptó el diagnóstico de retinopatía diabética y enfermedad cardiovascular cuando había constancia documentada de cualquiera de ambas en la historia clínica. Se consideró que existía retinopatía diabética grave cuando había antecedentes de retinopatía proliferativa tratada con panfotocoagulación o vitrectomía o cuando había historia de edema macular clínicamente significativo tratado con fotocoagulación focal o inyección de fármacos intravítreos. Se clasificó a los sujetos como fumadores o no fumadores, incluyendo entre estos últimos a los exfumadores. La actividad física se midió interrogando acerca del ejercicio realizado durante la actividad laboral y el tiempo de ocio, usando el cuestionario elaborado para la Encuesta Nacional de Salud del año 2006.

Las determinaciones bioquímicas se realizaron en el Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario Insular. Los detalles metodológicos de los estudios de laboratorio se han publicado con anterioridad¹⁴.

Todos los participantes firmaron consentimiento informado antes de su participación en el estudio. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Las Palmas de Gran Canaria (expediente CEIC-CHMI-491).

Genotipado. El genotipado se realizó en la Unidad de Genotipado Humano del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, mediante tecnología *OpenArray* (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos), siguiendo instrucciones del fabricante. Brevemente, la carga de las muestras de ADN se realizó sobre placas diseñadas que incluían los ensayos de los dos polimorfismos analizados (Taqman Assay[®], Thermo Fisher Scientific), con el instrumento *OpenArray[®] AccuFill[™] System* (Thermo Fisher Scientific). Se utilizó el sistema *QuantStudio[™] 12K Flex System* (Thermo Fisher Scientific) para la amplificación de las muestras y la lectura de los datos de fluorescencia. Se usaron muestras Hapmap con genotipo conocido como control interno del proceso. Los genotipos se asignaron con el software *Taqman Genotyper* (Thermo Fisher Scientific).

Análisis estadístico. Las variables categóricas se expresaron como frecuencias y porcentajes y las variables continuas como medias \pm DE o como medianas (rangos intercuartílicos), cuando la distribución de sus datos se desviaba de la normalidad. Los porcentajes se compararon mediante el test de χ^2 o el test de Fisher, las medias mediante la prueba t de Student y las medianas con el test de Wilcoxon para grupos independientes. El análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg se realizó utilizando la prueba de χ^2 sobre el conjunto de todos los individuos genotipados. La asociación entre el polimorfismo rs2032487 y la ERC se evaluó en modelos de herencia aditivo, dominante y recesivo, utilizando como referencia el grupo control con diabetes sin ERC avanzada. Siendo T el alelo normal y C el alelo de riesgo, se definieron tres variables asociadas a los mismos. Primero, una variable ordinal con valores 0 (TT), 1 (TC) y 2 (CC); en segundo lugar, una variable binaria con valores TT y TC + CC, asumiendo que C es un alelo dominante; finalmente, una segunda variable binaria con valores TT + TC y CC, en este caso asumiendo que C es recesivo. Se obtuvieron odds-ratios (OR) para cada una de estas variables mediante regresión logística. Por último, con objeto de evaluar el posible efecto independiente del polimorfismo rs2032487 sobre la presencia de ERC avanzada, se efectuó un análisis de regresión logística multivariante en el que se incluyeron otras variables asociadas con la variable dependiente en análisis univariados. La selección de las variables en el modelo multivariante se basó en un algoritmo completo de enumeración y en el criterio de información de Akaike. Los resultados se presentaron con OR, con intervalos de confianza (IC) al 95%, y P valores. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$. Los datos se analizaron con el paquete estadístico R, versión 3.3.1 (Viena, Austria)¹⁵.

Resultados

Las características de los participantes con diabetes tipo 2, con o sin ERC avanzada, se resumen en las [tablas 1 y 2](#). En

Tabla 1 Variables bioquímicas asociadas a la ERC en la población del estudio

	Enfermedad renal crónica avanzada		P
	Sí (N = 152)	No (N = 110)	
FGe (ml/min/1,73 m ²)	22,3 (18,4-25,8)	72,9 (64,5-82,3)	< 0,001
Creatinina sérica (mg/dl)	2,7 (2,3-3,0)	0,9 (0,8-1,1)	< 0,001
Albúmina/creatinina (mg/g)	552 (138-2458)	0 (0-18)	< 0,001
Proteinuria (g/24 h)	1,4 (0,5-4,8)	0,1 (0,1-0,2)	< 0,001
Albúmina (g/dl)	3,9 (3,7-4,1)	4,3 (4,1-4,4)	< 0,001
Potasio sérico (mmol/l)	4,7 (4,3-5,1)	4,4 (4,2-4,8)	0,003
Calcio sérico (mg/dl)	9,3 (8,9-9,8)	9,7 (9,4-9,9)	< 0,001
Fósforo sérico (mg/dl)	4,0 (3,5-4,5)	3,4 (3,1-3,6)	< 0,001
PTH (pg/ml)	152 (99-224)	44 (35-62)	< 0,001
25OHD (ng/ml)	12,0 (7,3-21,3)	22,3 (15,9-29,9)	< 0,001
Ácido úrico (mg/dl)	6,7 (5,8-7,8)	5,3 (4,3-6,4)	< 0,001
Hemoglobina (g/dl)	11,4 (10,5-12,8)	13,1 (12,3-14,0)	< 0,001

FGe: filtrado glomerular estimado.

Tabla 2 Características demográficas y clínicas de la población

	Enfermedad renal crónica avanzada		P
	Sí (N = 152)	No (N = 110)	
Edad (años)	69,6 ± 11,4	68,1 ± 8,3	0,228
Sexo masculino (%)	57,2	36,4	< 0,001
Duración de la diabetes (años)	18,8 ± 9,9	26,5 ± 6,0	< 0,001
Índice de masa corporal (kg/m ²)	32,1 ± 6,2	32,7 ± 6,2	0,430
Cintura (cm)	111,2 ± 13,8	107,2 ± 13,4	0,021
PAS (mmHg)	148,7 ± 24,4	140,2 ± 22,1	0,004
PAD (mmHg)	78,5 ± 11,3	72,8 ± 10,4	< 0,001
Hipertensión arterial (%)	99,3	88,2	< 0,001
HbA _{1c} (%)	7,3 (6,6-8,2)	7,5 (7,0-8,3)	0,032
Retinopatía diabética (%)	58,5	61,5	0,636
Retinopatía diabética grave (%)	48,7	47,3	0,824
Consumo actual de tabaco (%)	16,9	3,9	0,005
Actividad física sedentaria (%)	39,0	35,1	0,566
Colesterol LDL (mg/dl)	84,3 ± 35,2	77,6 ± 24,0	0,089
Colesterol HDL (mg/dl)	42,1 ± 13,0	46,6 ± 11,5	0,004
Triglicéridos (mg/dl)	154 (118-217)	131 (96-157)	< 0,001
Síndrome metabólico (%)	94,0	84,9	0,032
Cardiopatía isquémica (%)	35,1	19,3	0,005

PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

la [tabla 1](#) se muestran los resultados de diferentes determinaciones de laboratorio consustancialmente anómalas en pacientes con ERC avanzada, todas ellas significativamente diferentes entre ambos grupos. En conjunto, se puede apreciar que, aunque se aceptó la inclusión de pacientes con formas leves de ERC dentro del grupo control, la mayor parte de ellos tenía una función renal normal. La [tabla 2](#) presenta otras características demográficas, clínicas y bioquímicas de ambos grupos. Debido a la exigencia de incluir en el grupo control solo a individuos diagnosticados de diabetes por un periodo de tiempo superior a 20 años, el tiempo de evolución de la enfermedad fue mayor en este que en el grupo con ERC avanzada. El porcentaje de varones fue significativamente mayor entre los individuos con ERC avanzada, los cuales también se caracterizaron por

cifras más bajas de HbA_{1c}, peor perfil de riesgo cardiovascular (mayor proporción de fumadores activos, cifras más elevadas de presión arterial y circunferencia de cintura, y niveles más desfavorables de colesterol HDL y triglicéridos) y una prevalencia más alta de enfermedad coronaria establecida.

Prácticamente la totalidad de los individuos genotipados, incluyendo también los hemodonantes sanos, era homocigota para el alelo A del polimorfismo rs73885319 ([tabla 3](#)). Tan solo un individuo del grupo con diabetes y ERC avanzada y tres hemodonantes sanos eran heterocigotos. Estos datos confirman que el alelo de riesgo de esta variante (alelo G), tal y como sucede en otras poblaciones caucásicas, está prácticamente ausente también en Gran Canaria, y no fue objeto de análisis ulteriores.

Tabla 3 Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs73885319 y rs2032487 en las distintas poblaciones analizadas

	Diabetes tipo 2 con ERC avanzada (N = 152)	Diabetes tipo 2 sin ERC avanzada (N = 110)	P*	Población general sin diabetes ni ERC (N = 292)	P*
rs73885319					
Genotipos			1		1
AA (%)	99,3	100		99,0	
AG (%)	0,7	0		1,0	
GG (%)	0	0		0	
Alelos			1		1
A (%)	99,7	100		99,5	
G (%)	0,3	0		0,5	
rs2032487					
Genotipos			0,012		0,016
TT (%)	78,5	87,9		87,9	
TC (%)	21,5	10,3		12,1	
CC (%)	0	1,8		0	
Alelos			0,149		0,015
T (%)	89,3	92,9		93,9	
C (%)	10,7	7,1		6,1	

ERC: enfermedad renal crónica.

* Los valores de significación estadística se refieren a la comparación con el grupo con diabetes tipo 2 y ERC avanzada.

La [tabla 3](#) también muestra las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs2032487 en los distintos grupos analizados. Su distribución no se desvió del equilibrio de Hardy-Weinberg ($P=0,717$ para el total de los individuos genotipados). La comparación entre grupos de pacientes diabéticos con y sin ERC avanzada mostró diferencias estadísticamente significativas, a expensas de una menor frecuencia del genotipo TT entre los sujetos con ERC (78,5 versus 87,9%; $P=0,012$). Las frecuencias genotípicas en el grupo control de sujetos sanos fueron prácticamente idénticas a las observadas en el grupo con diabetes sin ERC, y, en consecuencia, también estadísticamente diferentes respecto al grupo con diabetes que sí presentaba ERC avanzada ($P=0,016$) ([tabla 3](#)). Las diferencias en las frecuencias alélicas entre los dos grupos con diabetes no fueron significativas, probablemente por el bajo número de sujetos estudiados, pero sí se alcanzó significación estadística al comparar los pacientes con diabetes y ERC avanzada con los hemodonantes sanos ($P=0,015$) ([tabla 3](#)).

Al aplicar diferentes modelos genéticos para verificar la asociación entre el polimorfismo rs2032487 y la ERC avanzada, no fue posible evaluar el modelo recesivo, puesto que solo dos sujetos eran homocigotos para el alelo de riesgo C. Ninguno de los dos modelos restantes se asoció significativamente con la presencia de ERC avanzada ([tabla 4](#)).

En un modelo multivariante en el que se incluyó el polimorfismo rs2032487 junto con todas las variables asociadas a la ERC entre sujetos con diabetes, el efecto del polimorfismo dejó de ser significativo, y solo el sexo masculino, la hipertensión arterial, el hábito tabáquico y los niveles de triglicéridos mantuvieron asociación con la ERC ([tabla 5](#)). El polimorfismo rs2032487 era excluido del modelo cuando se incluía en este el consumo de tabaco.

Discusión

Las variaciones en los genes *MYH9* y *APOL1* suponen una parte significativa del aumento del riesgo de ERC no diabética en individuos de raza negra. En estas poblaciones, los haplotipos de riesgo de ambos genes están fuertemente cosegregados, y no se conoce con exactitud cuál es la participación de cada uno de ellos en el riesgo de enfermedad renal. No obstante, tanto los estudios iniciales en afroamericanos de Estados Unidos^{12,13}, como otros posteriores en poblaciones del Oeste de África¹⁶, sugieren un papel preponderante de variantes polimórficas de *APOL1*. Sin embargo, algunos polimorfismos de *MYH9* también mostraron asociación con la ERC de origen no diabético en una población estadounidense mayoritariamente caucásica, en la que la frecuencia de las variantes de riesgo de *APOL1* era extremadamente baja¹⁷, lo cual evidencia, por tanto, un papel independiente de *MYH9* como responsable del aumento del riesgo de ERC.

Por lo que respecta a la ERC relacionada con la diabetes, los estudios seminales que descubrieron al gen *MYH9*, usando mapeo genético mediante desequilibrio de ligamiento por mezcla, no encontraron asociación entre este gen y la ERC terminal atribuida a diabetes en población afroamericana estadounidense^{10,11}. Los autores de uno de ellos, sin embargo, realizaron una investigación adicional, específicamente para estudiar una población más amplia con diagnóstico clínico de ERC terminal secundaria a diabetes tipo 2, y pudieron demostrar asociación entre la ERC y dos haplotipos de *MYH9*¹⁸. Nuevos estudios mediante asociación del genoma completo^{19,20} y análisis de genes candidatos²¹ han corroborado la relación entre variantes de *MYH9* y la nefropatía diabética terminal en afroamericanos, aunque también en este caso, como sucede en la ERC no diabética,

Tabla 4 Análisis de la asociación entre el polimorfismo rs2032487 y la enfermedad renal crónica avanzada asociada a diabetes tipo 2 según el modelo de herencia

Modelo	Genotipo (%)		OR (IC 95%)	P
	Diabetes tipo 2 con ERC avanzada (N = 152)	Diabetes tipo 2 sin ERC avanzada (N = 110)		
<i>Dominante</i>				
TT	78,5	87,9	1	
TC/CC	21,5	12,1	1,98 (0,98-3,98)	0,056
<i>Recesivo</i>				
TT/TC	100	98,2	-	-
CC	0	1,8		
<i>Aditivo</i>			1,60 (0,84-3,06)	0,151

ERC: enfermedad renal crónica.

dicha relación se atenúa significativamente cuando se ajusta por el efecto de *APOL1*²¹. La información sobre el papel de *MYH9* en la ERC secundaria a diabetes en poblaciones caucásicas es escasa. Un estudio realizado en norteamericanos de ascendencia europea encontró asociación entre la ERC terminal y tres polimorfismos del haplotipo E1 (rs4821480, rs2032487 y rs4281481)²². Estos resultados no fueron confirmados en una población más pequeña del Reino Unido²³, si bien en este caso estaba mayoritariamente formada por individuos con ERC no avanzada.

Los datos observados en el presente estudio sugieren que esta variante del gen *MYH9* podría estar también relacionada con un mayor riesgo de ERC avanzada en individuos con diabetes tipo 2 en población de Gran Canaria.

Estos resultados deben ser considerados preliminares, dadas las considerables limitaciones del estudio. En primer lugar, solo se investigó un único polimorfismo del haplotipo E1, por lo que sería conveniente, en futuros estudios, ampliar la investigación a otras variantes del gen. En concreto, y como se ha señalado por otros autores²⁴, el haplotipo E1 podría inferirse de una manera más segura simplemente mediante el análisis adicional del polimorfismo rs3752462. Por otro lado, también es posible que, en nuestra población, los polimorfismos de riesgo no se encuentren en el mismo grado de desequilibrio de ligamiento observado en otras poblaciones. En este sentido, en un estudio realizado en España, sobre población general de Asturias²⁵, se observó que un valor de FGe < 60 ml/min/1,73 m² se asociaba con el polimorfismo rs3752462, pero no con rs4821480, el cual se encuentra en desequilibrio de ligamiento con rs2032487. La segunda gran limitación de la presente investigación resulta del reducido tamaño muestral analizado, especialmente teniendo en cuenta la baja frecuencia del alelo de riesgo de rs2032487. Cabe decir que, para las frecuencias observadas, el tamaño muestral necesario para conseguir una potencia estadística del 80%, con un valor de significación de 0,05, hubiese sido de 978 individuos por grupo, un número muy por encima del tamaño de la muestra utilizada para el estudio. De hecho, no fue posible analizar la posible asociación del polimorfismo con un modelo genético recesivo, dada la rareza del genotipo homocigoto CC. Este aspecto puede ser relevante, puesto que la mayor

Tabla 5 Variables asociadas a la enfermedad renal crónica avanzada en pacientes con diabetes tipo 2 en análisis multivariante

	OR (IC 95%)	P
Sexo masculino	3,08 (1,71-5,56)	< 0,001
Hipertensión arterial	30,00 (3,64-247,72)	0,002
Consumo de tabaco	4,19 (1,01-17,33)	0,048
Triglicéridos (por mg/dl)	1,01 (1,01-1,02)	< 0,001
rs2032487 (T > C)*	2,24 (0,96-5,22)	0,061

* Sujetos con genotipo TT como referencia.

parte de los estudios publicados han coincidido en señalar que el efecto de las variantes intrónicas de *MYH9* sobre la susceptibilidad a ERC se basa en un patrón de herencia recesivo^{10,11,18,22,24}.

Aunque se sabe que una pequeña proporción de los habitantes de las Islas Canarias conserva rasgos genéticos de ancestros subsaharianos, la frecuencia del genotipo de riesgo de *APOL1* fue mínima, tal y como sucede en las poblaciones de raza caucásica^{17,22}, y no observamos cosegregación entre el polimorfismo de *MYH9* y el de *APOL1*. Como se mencionó antes, la frecuencia del alelo africano ancestral (C) de rs2032487 fue también baja, en comparación con poblaciones del África negra, y globalmente similar a la recogida en la población ibérica del 1000 Genome Project²⁶ y a la observada en otras poblaciones europeas^{25,27}. La tabla 5 resume las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs2032487 en distintas poblaciones próximas a la evaluada en este estudio. Por tanto, parece muy poco probable que las variaciones de *MYH9* puedan tener cualquier impacto en el incremento del riesgo de ERC asociada a diabetes tipo 2 observado en Gran Canaria. Deberían darse nuevos pasos en la búsqueda de otros posibles genes que aumenten la susceptibilidad a la ERC en la población canaria con diabetes tipo 2. Teniendo en cuenta que el universo muestral es limitado, y puede que sea incluso genéticamente heterogéneo entre diferentes islas, podría ser útil planificar estudios que hagan posible el uso de genotipados masivos sin requerir los grandes tamaños muestrales habitualmente requeridos en este tipo de procedimientos, por ejemplo mediante el uso de

Tabla 6 Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs2032487 entre la población estudiada y otras poblaciones de la Península Ibérica

Autores	Origen de la población	N	Alelos (%)		Genotipos (%)		
			T	C	TT	TC	CC
Tavira et al ^{25*}	Asturias	592	92,0	8,0	83,9	16,0	0,1
1000 Genome Project ²⁶	España	107	94,9	5,1	89,7	10,3	
Oleksyk et al ^{27*}	País Vasco Francés	24	93,2	6,8	86,4	13,6	
Estudio actual	Gran Canaria	554	92,4	7,6	85,3	14,4	0,3

Datos imputados del genotipo del polimorfismo rs4821480, que se encuentra en desequilibrio de ligamiento absoluto con rs2032487.

estudios de asociación genómica amplia aplicado a estudios de pedigrís extensos, rigurosamente fenotipados²⁸ (tabla 6).

El gen *MYH9* codifica la miosina 9, una de las subunidades que conforman la miosina no muscular tipo IIA. La miosina tipo IIA forma parte del complejo actina-miosina, elemento clave en la motilidad celular y la integridad del citoesqueleto. En el riñón, el gen *MYH9* se expresa principalmente en los podocitos, así como en células mesangiales y capilares arteriolares y peritubulares, y desde hace tiempo se propuso que la anormal expresión de *MYH9* podría inducir la fragilidad de los podocitos, favoreciendo la proteinuria y el fallo renal²⁴. Varios estudios han confirmado esta hipótesis en modelos murinos portadores de mutaciones inactivadoras de *MHY9*, que experimentan disfunción podocitaria, glomerulosclerosis y desarrollo acelerado de ERC, principalmente cuando son expuestos a distintos agentes que provocan injuria renal, tales como la angiotensina II, la reducción de masa renal o ciertas drogas nefrotóxicas²⁹⁻³¹. Por el momento se desconoce en qué medida se pueden utilizar estos hallazgos para explicar la asociación entre diferentes mutaciones intrónicas en *MHY9* y el riesgo de ERC diabética y no diabética. En cualquier caso, la evidencia disponible hasta el momento sugiere que el desarrollo de albuminuria o lesión glomerular en el contexto de alteraciones en la expresión de *MHY9* podría requerir de segundos estímulos, tales como la hipertensión arterial o la pérdida de nefronas funcionantes, de modo que es posible que solo resulte patogénica en presencia de factores ambientales. En nuestro estudio multivariante, la asociación entre el polimorfismo rs2032487 y la ERC avanzada dejó de ser significativa al ajustar por otros factores, fundamentalmente el tabaquismo, sugiriendo efectivamente una interacción entre esta variante de *MHY9* y ciertos agentes ambientales. Es necesario recalcar que los resultados del análisis multivariante deben ser considerados con precaución, ya que se basan en valores puntuales de diferentes variables cuyo efecto sobre el riesgo de ERC es resultado de muchos años de exposición. Existen numerosos datos, en todo caso, que han relacionado el consumo de tabaco con la progresión de la nefropatía diabética. Se ha observado hipertrofia glomerular, glomerulosclerosis, expansión mesangial, alteración de la barrera de filtrado glomerular, elevación de la albuminuria y deterioro del filtrado glomerular entre pacientes fumadores con diabetes³². De hecho, existen algunos indicios de que el tabaquismo induce daño podocitario en pacientes con diabetes y microalbuminuria³³. Serán necesarios estudios futuros para investigar si las variantes intrónicas de *MHY9* favorecen el daño renal facilitando

el efecto lesivo de otras injurias ambientales sobre los podocitos y la barrera de filtrado glomerular.

En conclusión, aunque su frecuencia alélica no fue diferente a la observada en otras poblaciones europeas, el polimorfismo rs2032487 del gen *MHY9* se asoció con la ERC avanzada en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 del área Sur de Gran Canaria. Los haplotipos de riesgo de este gen deberían ser estudiados en poblaciones más amplias para evaluar su papel como marcadores de riesgo de daño renal en población con diabetes en nuestro medio.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España (IP 11 1880). El Laboratorio de Genotipado Humano, miembro del CeGen, PRB2-ISCIII, recibió apoyo de la beca PT13/0001/0005 del PE I+D+i 2013-2016, financiada por el ISCIII and y el ERDF (Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Sociedad Española de Nefrología. Registros de Enfermos Renales [consultado 17 Ago 2018]. Disponible en: <http://www.senefro.org/modules.php?name=webstructure&idwebstructure=29>.
2. Lorenzo V, Boronat M, Saavedra P, Rufino M, Maceira B, Nóvoa FJ, et al. Disproportionately high incidence of diabetes-related end-stage renal disease in the Canary Islands An analysis based on estimated population at risk. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25:2283-8.
3. Lorenzo V, Boronat M. End stage renal disease associated with diabetes in the Canary Islands: a public health problem with significant human suffering and high economic costs. *Nefrología*. 2010;30:381-4.
4. Flores C, Maca-Meyer N, Pérez JA, González AM, Larruga JM, Cabrera VM. A predominant European ancestry of paternal lineages from Canary Islands. *Ann Hum Genet*. 2003;67:138-52.
5. Arnaiz-Villena A, Muñoz E, Campos C, Gómez-Casado E, Tomasi S, Martínez-Quiles N, et al. Origin of Ancient Canary Islanders (Guanches): presence of Atlantic/Iberian HLA and Y chromosome genes and ancient Iberian language. *Int J Mod Anthropol*. 2015;8:67-93.
6. Maca-Meyer N, Villar J, Pérez-Méndez L, Cabrera de León A, Flores C. A tale of aborigines, conquerors and slaves: Alu insertion

- polymorphisms and the peopling of Canary Islands. *Ann Hum Genet.* 2004;68 Pt 6:600–5.
7. Martínez-Laso J, Ramírez-Puga A, Rivas-García E, Fernández-Tagarro E, Auyanet-Saavedra I, Guerra-Rodríguez R, et al. North African-Mediterranean HLA genetic contribution in a population of the kidney transplant waiting list patients of Canary origin (Gran Canaria). *HLA.* 2018;92:12–23.
 8. Barsoum RS. Burden of chronic kidney disease: North Africa. *Kidney Int Suppl.* (2011). 2013;3:164–6.
 9. Stanifer JW, Jing B, Tolan S, Helmke N, Mukerjee R, Naicker S, et al. The epidemiology of chronic kidney disease in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* 2014;2:e174–81.
 10. Kao WH, Klag MJ, Meoni LA, Reich D, Berthier-Schaad Y, Li M, et al. MYH9 is associated with nondiabetic end-stage renal disease in African Americans. *Nat Genet.* 2008;40:1185–92.
 11. Kopp JB, Smith MW, Nelson GW, Johnson RC, Freedman BI, Bowden DW, et al. MYH9 is a major-effect risk gene for focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet.* 2008;40:1175–84.
 12. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, et al. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science.* 2010;329:841–5.
 13. Tzur S, Rosset S, Shemer R, Yudkovsky G, Selig S, Tarekegn A, et al. Missense mutations in the APOL1 gene are highly associated with end stage kidney disease risk previously attributed to the MYH9 gene. *Hum Genet.* 2010;128:345–50.
 14. Boronat M, García-Cantón C, Quevedo V, Lorenzo DL, López-Ríos L, Batista F, et al. Non-albuminuric renal disease among subjects with advanced stages of chronic kidney failure related to type 2 diabetes mellitus. *Ren Fail.* 2014;36:166–70.
 15. R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [consultado 17 Ago 2018]. Disponible en: <https://www.Rproject.org/>.
 16. Tayo BO, Kramer H, Salako BL, Gottesman O, McKenzie CA, Ogunniyi A, et al. Genetic variation in APOL1 and MYH9 genes is associated with chronic kidney disease among Nigerians. *Int Urol Nephrol.* 2013;45:485–94.
 17. O’Seaghdha CM, Parekh RS, Hwang SJ, Li M, Köttgen A, Coresh J, et al. The MYH9/APOL1 region and chronic kidney disease in European-Americans. *Hum Mol Genet.* 2011;20:2450–6.
 18. Freedman BI, Hicks PJ, Bostrom MA, Comeau ME, Divers J, Bleyer AJ, et al. Non-muscle myosin heavy chain 9 gene MYH9 associations in African Americans with clinically diagnosed type 2 diabetes mellitus-associated ESRD. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:3366–71.
 19. McDonough CW, Palmer ND, Hicks PJ, Roh BH, An SS, Cooke JN, et al. A genome-wide association study for diabetic nephropathy genes in African Americans. *Kidney Int.* 2011;79:563–72.
 20. Iyengar SK, Sedor JR, Freedman BI, Kao WH, Kretzler M, Keller BJ, et al. Genome-wide association and trans-ethnic meta-analysis for advanced diabetic kidney disease: Family Investigation of Nephropathy and Diabetes (FIND). *PLoS Genet.* 2015;11:e1005352.
 21. Palmer ND, Ng MC, Hicks PJ, Mudgal P, Langefeld CD, Freedman BI, et al. Evaluation of candidate nephropathy susceptibility genes in a genome-wide association study of African American diabetic kidney disease. *PLoS One.* 2014;9:e88273.
 22. Cooke JN, Bostrom MA, Hicks PJ, Ng MC, Hellwege JN, Comeau ME, et al. Polymorphisms in MYH9 are associated with diabetic nephropathy in European Americans. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:1505–11.
 23. McKnight AJ, Duffy S, Fogarty DG, Maxwell AP. Association of MYH9/APOL1 with chronic kidney disease in a UK population. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:3660.
 24. Kopp JB, Winkler CA, Nelson GW. MYH9 Genetic variants associated with glomerular disease: what is the role for genetic testing? *Semin Nephrol.* 2010;30:409–17.
 25. Távira B, Coto E, Gómez J, Tranche S, Miguélez K, Ortega F, et al. Association between a MYH9 polymorphism (rs3752462) and renal function in the Spanish RENASTUR cohort. *Gene.* 2013;520:73–6.
 26. Ensembl.org. Human (GRCh38.p12), [consultado 17 Ago 2018]. Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=22:36298701-36299701;v=rs4821480;vdb=variation;vf=3070653#population_freq_AFR.
 27. Oleksyk TK, Nelson GW, An P, Kopp JB, Winkler CA. Worldwide distribution of the MYH9 kidney disease susceptibility alleles and haplotypes: evidence of historical selection in Africa. *PLoS One.* 2010;5:e11474.
 28. Wijsman EM. The role of large pedigrees in an era of high-throughput sequencing. *Hum Genet.* 2012;131:1555–63.
 29. Johnstone DB, Zhang J, George B, Léon C, Gachet C, Wong H, et al. Podocyte-specific deletion of Myh9 encoding nonmuscle myosin heavy chain 2A predisposes mice to glomerulopathy. *Mol Cell Biol.* 2011;31:2162–70.
 30. Zhang Y, Conti MA, Malide D, Dong F, Wang A, Shmist YA, et al. Mouse models of MYH9-related disease: mutations in nonmuscle myosin II-A. *Blood.* 2012;119:238–50.
 31. Cechova S, Dong F, Chan F, Kelley MJ, Ruiz P, Le TH. MYH9 E1841K mutation augments proteinuria and podocyte injury and migration. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29:155–67.
 32. Cignarelli M, Lamacchia O, di Paolo S, Gesualdo L. Cigarette smoking and kidney dysfunction in diabetes mellitus. *J Nephrol.* 2008;21:180–9.
 33. Nakamura T, Kawagoe Y, Koide H. Effect of cigarette smoking on urinary podocyte excretion in early diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2003;26:1324–5.