

Riesgo cardiovascular en mexicanos con enfermedad renal crónica

Esmirna Arroyo-Enríquez¹, Cleto Álvarez-Aguilar², Anel Gómez-García², Joel Edmundo Meza López³, Alain R Rodríguez-Orozco⁴

1 UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR NO 80. INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. MORELIA, MICHOACÁN. MÉXICO.

2 CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE MICHOACÁN. INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. MORELIA. MICHOACÁN. MÉXICO

3 CENTRO MULTIDISCIPLINARIO DE ESTUDIOS EN BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE VETERINARIA Y ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO. MORELIA, MICHOACÁN. MÉXICO.

4 FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ". UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO. MORELIA, MICHOACÁN. MÉXICO.

Cad Aten Primaria
Año 2015
Volume 21
Páx. 182 - 191

RESUMEN

Introducción: La Hipertrofia Ventricular Izquierda (HVI) es un importante predictor de mortalidad en pacientes con Enfermedad Renal Crónica (ERC). Este trabajo se realizó con el objetivo de estudiar la asociación entre marcadores de riesgo cardiovascular (inflamatorios y de desnutrición) con la enfermedad renal crónica asociada a Diabetes Mellitus en una muestra de pacientes mexicanos y determinar su relación con masa ventricular izquierda.

Material y Métodos. Se realizó un estudio transversal comparativo en grupos paralelos en el que se distribuyeron 76 pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 en 3 grupos, con nefropatía diabética etapa V en diálisis (n=22), nefropatía diabética etapa IV, prediálisis (n=21) y grupo control sin manifestaciones clínicas de nefropatía diabética (n= 23). Se determinó Masa Ventricular Izquierda (MVI) por ultrasonografía y se estudiaron variables nutricionales bioquímicas, biometría hemática, marcadores de inflamación (PCRhs, IL-6, TNF- α) y el polimorfismo IL6 634 C/G.

Resultados. Los niveles de masa grasa, Hb, Ht, linfocitos y albúmina fueron estadísticamente diferentes en pacientes en prediálisis y DPCA respecto al grupo control ($p < 0,001$), al igual que la IL6, TNF- α y PCRhs ($p < 0,05$). El polimorfismo IL6 634 C/G se asoció a deterioro de la función renal en pacientes con ERC (OR 1,77; IC 95% 1,05-2,98). Se encontró correlación directa entre MVI y urea ($r=0,369$; $p < 0,001$), IL-6 ($r=0,472$; $p < 0,001$) y TNF- α ($r=0,269$; $p < 0,05$).

Conclusiones. La desnutrición, la inflamación y el polimorfismo IL6 634 C/G se relacionan con desarrollo de enfermedad cardiovascular en mexicanos con ERC. Debe evaluarse la contribución que a la mortalidad de estos pacientes tiene la asociación de MVI con IL6, PCRhc, TNF- α y urea.

ABSTRACT

Introduction: Left ventricular hypertrophy (LVH) is an important predictor of mortality in patients with chronic kidney disease (CKD). This study was undertaken to analyze the contribution of cardiovascular risk markers (inflammation and malnutrition) on progression of the renal disease in patients with CKD and to determine their association with ventricular left mass (MVI).

Methods and material: In a cross sectional and comparative study with parallel groups, 76 patients with diabetes mellitus type 2 were distributed in 3 groups: diabetic patients V stage nephropathy, in dialysis (n=22), diabetic patients IV stage nephropathy, in predialysis (n=21) and control group without clinic manifestations of diabetic nephropathy (n=23). Left ventricular mass (LVM) was determined by ultrasonography; and were determined nutritional and biochemistry markers and cell blood count, PCRhs, serum levels of IL-6 and TNF- α and IL6 634 C/G polymorphism.

Results. The levels of fat mass, Hb, Ht, lymphocytes and albumin were statistically different in patients with predialysis and dialysis in comparison with the control group ($p < 0,001$), the same as serum levels of IL6, TNF- α y PCRhs ($p < 0,05$). The IL-6 634 C/G was associated with renal injure in patients with CRF (OR 1,77; 95% CI 1,05-2,98). We found a direct correlation between MVI and urea ($r=0,369$, $p < 0,001$), IL-6 ($r= 0,472$, $p < 0,001$) and TNF- α ($r = 0,269$, $p < 0,05$).

Conclusion. Malnutrition, inflammation and IL-6 634 C/G polymorphism are in close relation with development of cardiovascular disease in patients with CKD. We recommend evaluating the contribution of the association among MVI and PCRhs, IL-6, TNF- α and urea to the mortality rate of these patients.

Título: Marcadores inflamatorios y metabólicos de riesgo cardiovascular y su relación con masa ventricular izquierda en una muestra de pacientes mexicanos, con enfermedad renal crónica asociada a diabetes mellitus.

Title: Inflammatory and metabolic markers of cardiovascular risk and their relationship with left ventricular mass in a sample of mexican patients with chronic kidney disease associated with diabetes mellitus.

Palabras clave: Enfermedad renal crónica, diabetes mellitus, desnutrición, inflamación, polimorfismo IL6 634 C/G, masa ventricular izquierda, TNF- α , masa albúmina, PCRhc, urea.

Key words: Left ventricular hypertrophy, diabetes mellitus type 2, chronic kidney disease, inflammation, IL-6 634 C/G polymorphisms, PCRhs, urea.

ABREVIATURAS

c-HDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad.

c-LDL: colesterol de las lipoproteínas de baja densidad.

DCR : depuración de creatinina en orina de 24 horas.

DPCA: diálisis peritoneal continua ambulatoria.

ECV: enfermedad cardiovascular.

FRR: función renal residual.

HVI: hipertrofia ventricular izquierda.

IRC: insuficiencia renal crónica.

IL-6: interleucina 6.

MVI: masa del ventrículo izquierdo.

PCRhs: proteína C reactiva de alta sensibilidad.

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.

INTRODUCCIÓN

La Hipertrofia Ventricular Izquierda (HVI) es un importante predictor de mortalidad en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC).¹ Se conoce que muchas de las vías de señalización que indican proliferación en otros tipos celulares; en el miocito cardíaco modulan el crecimiento hipertrófico.^{2,3} Este efecto es regulado a través de factores de transcripción que regulan la activación de un programa genético de hipertrofia cardíaca.^{2,4-5} Muchos de estos factores interactúan entre sí y es difícil establecer la magnitud de su cooperación individual a este programa genético de hipertrofia. Varios factores solubles se han relacionado con estímulo hipertrófico del cardiomiocito y entre ellos la Interleucina 6 (IL-6) se ha relacionado con HVI,⁶ muchas de éstas citocinas, factores de crecimiento, proteínas de matriz extracelular y proteasas son producidos por miocitos y también por miofibroblastos.⁷

La inflamación se ha reconocido como uno de los estímulos para el desarrollo de aterosclerosis y un factor de riesgo de muerte cardiovascular más importante que los marcadores tradicionalmente conocidos⁷⁻¹². Entre los reguladores de la respuesta inflamatoria la IL-6 es un elemento clave; esta se produce en los monocitos, linfocitos, fibroblastos, células endoteliales y mesangiales¹³ y participa en la fase aguda de inflamación y junto con la IL-1, la proteína C reactiva (PCR), el TNF- α y el TGF- α son las citocinas que más se relacionan con la regulación de la fibrosis en la enfermedad renal¹⁴. Estudios epidemiológicos han demostrado la asociación entre la concentración plasmática de IL-6 y lesiones aterosclerosas en carótidas y con isquemia e infarto del miocardio^{15,16}.

Experimentalmente, la IL-6 se sobreexpresa en suero y orina de pacientes con IRC¹⁷ y se le ha encontrado en lesiones ateromatosas antiguas y en lesiones arteriales con activación de complemento^{18,19}.

Lo anterior parece tener al menos en parte un componente genético ya que investigaciones recientes han encontrado polimorfismos genéticos que demuestran una asociación con el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética. Entre ellos se encuentra el polimorfismo de la región del promotor de la IL-6 (-174 G/C) que puede ser un factor que module la fase aguda de inflamación. La frecuencia del alelo C es de 0,4 con 16% de homocigotos que pueden estar protegidos de ECV porque tienen aplanada la respuesta de fase aguda de inflamación. Además, estudios clínicos recientes muestran la importancia de este polimorfismo en la presencia de lesiones aterosclerosas carotídeas en pacientes sin daño renal²⁰. Por otro lado, otro polimorfismo de la IL-6 el -634 C/G también de la IL-6 puede ser un factor de susceptibilidad para la progresión de la nefropatía diabética²¹.

Correspondencia

MD, PHD. ALAIN R. RODRÍGUEZ-OROZCO.
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS. "DR IGNACIO CHÁVEZ".
UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO.
MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO.

RAFAEL CARRILLO ESQUINA SALVADOR GONZÁLEZ HERREJÓN S/N.
BOSQUE CUAUHEMOC. COLONIA CENTRO. POSTAL CODE 58000, PO
BOX 136, MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO.
(TEL. + 52- 443 340 0513),
E-MAIL RODRIGUEZ.OROZCO.AR.2011@GMAIL.COM.

Tabla 1. Variables clínicas y bioquímicas en la población estudiada

VARIABLE	Prediálisis (n=31)	Diálisis (n=22)	Control (n=23)
Edad (años)	61 ± 8	57 ± 7	59 ± 8
Sexo (H/M)	12-19	8-14	6-17
Peso (kg)**	62 ± 12	62 ± 8	72 ± 10
IMC (kg/m ²)*	25,4 ± 4,8	25,6 ± 4,2	29,1 ± 5,2
PAS (mm/Hg)	141 ± 18	131 ± 21	128 ± 16
PAD (mm/Hg)	84 ± 23	79 ± 11	80 ± 7
Glucosa (mg/dL)	148,4 ± 62,1	149,7 ± 94,8	189,9 ± 75,1
Urea (mg/dL)***	111,9 ± 46,6	132,5 ± 69,4	36,2 ± 16,0
Creatinina sérica(mg/dL)***	3,5 ± 1,9	8,4 ± 4,4	0,77 ± 0,18
DCr (ml/dL) 1,73 m ² ***	19,0 ± 7,2	11,1 ± 6,6	103,3 ± 7,0
Ácido úrico (mg/dL)**	9,1 ± 5,9	8,0 ± 3,5	5,1 ± 1,2
Colesterol total (mg/dL)	191,8 ± 48,8	222,3 ± 67,4	205,9 ± 43,4
Triglicéridos (mg/dL)	194,4 ± 85,6	250,7 ± 110,3	223,8 ± 115,3
c-HDL (mg/dL)	51,7 ± 14,8	40,6 ± 25,3	47,7 ± 19,1
c-LDL (mg/dL)	101,3 ± 48,7	122,5 ± 38,4	116,4 ± 45,1
Dx DM-2 (años)	18 ± 7	18 ± 5	15 ± 5
MVI (g)***	136,0 ± 30,1	134,4 ± 36,0	88,8 ± 13,8

IMC: Índice de masa corporal; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; DCr: Depuración de creatinina en orina de 24 horas; c-HDL: lipoproteínas de alta densidad; c-LDL lipoproteínas de baja densidad; Dx DM 2: Años de diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2; MVI: Masa ventricular izquierda. Prueba de ANOVA. Prueba de Tukey como Post Hoc.

* p< 0,05; ** p<0,01; *** p<0,0001

También juega un importante papel en la inflamación el TNF- α que es regulado por la IL-1 y la IL-6 y colabora en el proceso inflamatorio al estimular la expresión de proteínas de adhesión, como el ICAM-1 y el VCAM-122 y también se ha estimado que niveles altos de PCR son otro factor de riesgo predictivo importante para la ECV¹⁸

Resulta clínicamente trascendente continuar estudiando el papel que desempeñan marcadores de inflamación, nutricionales, y genéticos en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal crónica a fin de organizar intervenciones terapéuticas más tempranas encaminadas a evitar la progresión de la ECV en estos pacientes.

Este trabajo se realizó con el objetivo de analizar la contribución de marcadores de riesgo cardiovascular (inflamatorios y de desnutrición) en la progresión de daño renal en pacientes con Enfermedad Renal Crónica y determinar su asociación con la MVI.

MÉTODOS

Es un estudio epidemiológico transversal comparativo, con tres grupos paralelos. De Enero a Julio del 2007, se captaron para elegibilidad a

1078 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) y que acudían regularmente a la consulta externa de la Unidad de Medicina Familiar N° 75, Unidad de Medicina Familiar N° 80, y/o servicio de Nefrología, Endocrinología o Medicina Interna del Hospital General Regional No. 1, (HGR 1), todos ellos pertenecientes al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en Morelia, Michoacán, México; de ellos se excluyeron 215 pacientes por no reunir los criterios de inclusión y 787 por tener enfermedades relacionadas como Hipertensión arterial y diagnóstico ya establecido de enfermedades cardíacas.

Se incluyeron a 76 pacientes de ambos sexos, mayores de 20 años, con DM-2. El tamaño de la muestra se calculó con base a la ecuación de una proporción (tamaño de muestra para cada grupo), tomando un valor de p=0,5 con un margen de tolerancia de 30% (D) y un poder estadístico del 80%

[(Z1- α /2)]² (n=22 pacientes por grupo). Se estimó que el 80% de pacientes con ERC en DPCA tienen riesgo cardiovascular elevado.

Se distribuyeron los pacientes en tres grupos, uno de ellos formado por 22 pacientes con diagnóstico de ERC en etapa V, sometidos a protocolo de tratamiento de DPCA como tratamiento sustitutivo de la

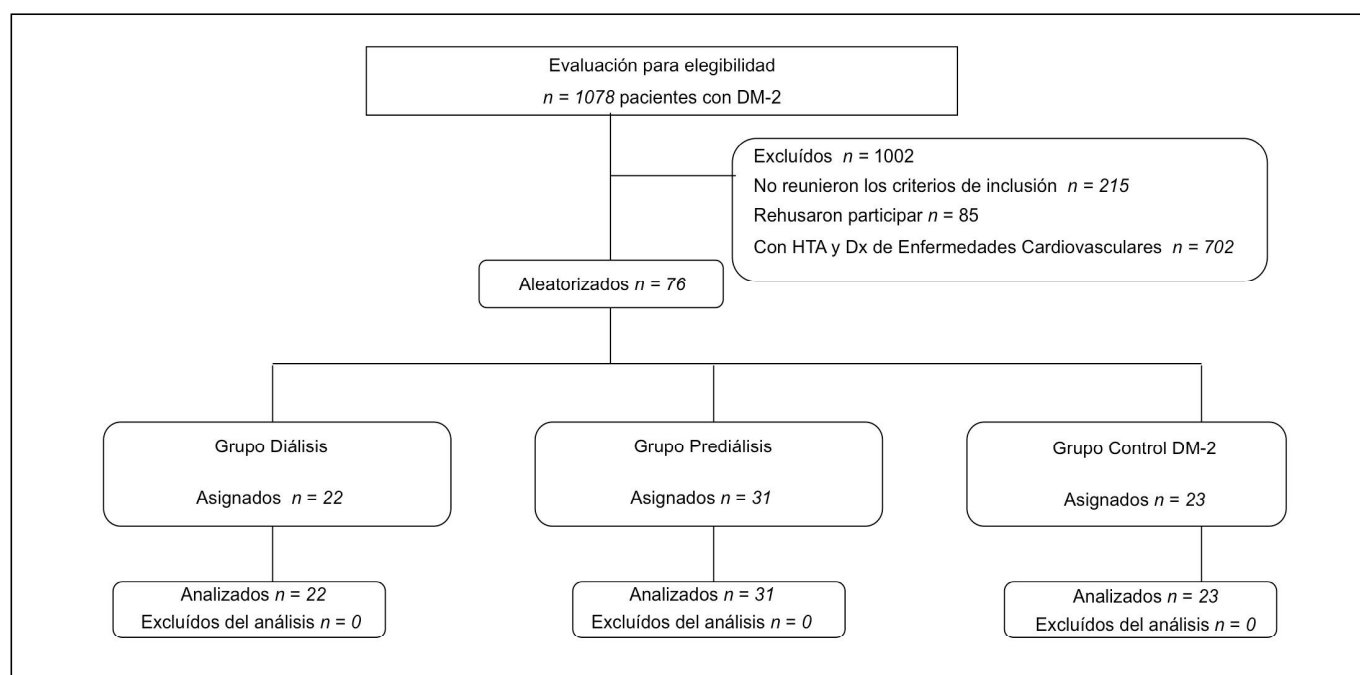


FIGURA 1: Diagrama del estudio. Leyenda. DM2: Diabetes mellitus tipo 2; HTA: Hipertensión arterial; Dx: Diagnóstico

función renal; el otro conformado por 31 pacientes con IRC en etapa IV (prediálisis) y el tercer grupo que lo integraron 23 pacientes con DM-2 sin evidencia clínica ni bioquímica de daño renal (controles) quienes participaron bajo los siguientes criterios: pacientes de ambos sexos, con edad mayor de 20 años, con diagnóstico de DM-2 según los lineamientos de la Asociación Americana de Diabetes ²³. (Figura 1)

Las variables estudiadas al momento de la inclusión fueron: variables antropométricas y del estado nutricional: edad, género, peso, talla índice de masa corporal (IMC) por el índice de Quetelet, % de masa grasa, % de masa magra y agua en kilos obtenidos por bioimpedancia eléctrica (Body Composition Analyzer TBF-215; TANITA, USA), variables clínicas: presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) la cuales fueron tomadas con un esfigmomanómetro de mercurio (Mercurial Sphygmomanometer American Diagnostic Corporation, USA) previamente calibrado, con el paciente sentado en previo reposo de 5 minutos y por lo menos 30 minutos sin haber ingerido bebidas con cafeína o haber fumado cigarrillo; variables de imagenología: masa del ventrículo izquierdo que se midió con un ecocardiógrafo (SSA-380A) con un transductor de 3,0 MHz acorde a las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía²⁴ y se estimó por la formula de Devereux y Reichek.²⁵

Se practicaron además biometría hemática y variables bioquímicas: glucosa, creatinina (sérica), depuración de creatinina en orina de 24 horas (DCR), urea, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, albúmina. Finalmente se determinaron también marcadores de inflamación: PCRhs, IL-6 humana y TNF- α y se determinaron los polimorfismos de la IL-6 634 C/G.

A cada paciente se le citó 2 veces. En la primera cita se le realizó la historia clínica completa, la bioimpedancia eléctrica y se obtuvo muestra de sangre venosa. En la segunda visita se le realizó el ecocardiograma de acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía.²⁴

Todos los participantes dieron su autorización por escrito después de que se les informara ampliamente sobre los objetivos del estudio y tuvieron la posibilidad de abandonar voluntariamente el estudio en cualquier momento. El protocolo se presentó y se autorizó por el Comité Local de Investigación del HGR N° 1 del IMSS, y por el Comité de Ética del Hospital General Regional N° 1 del IMSS.

Análisis de las muestras de sangre

La extracción de sangre venosa se realizó entre las 7:00 y 8:00 de la mañana, tras 12 horas de ayuno, con un reposo previo del paciente de al menos 25 minutos. Las muestras fueron colectadas por personal entrenado.

Para la obtención de suero se centrifugaron las muestras de sangre a 4000 rpm durante 15 minutos y este se distribuyó en alícuotas para la determinación inmediata de glucosa, CT, c-LDL, c-HDL, albúmina, creatinina, urea, ácido úrico. Otras alícuotas se conservaron a -70°C hasta su procesamiento y se usaron para medir las concentraciones séricas de IL-6 y TNF- α mediante ELISA.

Glucosa, creatinina (sérica y en orina), urea, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, albúmina y PCR séricos se determinaron por un sistema automatizado de Química Clínica con tecnología de Química Seca (equipo Vitros 950, Chemistry System. Johnson &

Tabla 2. Variables nutricionales y de inflamación en la población estudiada

VARIABLE	Prediálisis (n=31)	Diálisis (n=22)	Control (n=23)
Masa grasa (kg)***	16,2 ± 7,8	14,3 ± 7,8	25,9 ± 9,2
Masa magra (kg)	46,3 ± 8,6	48,2 ± 7,6	46,2 ± 7,2
Agua total (kg)	33,9 ± 6,2	35,3 ± 5,6	33,8 ± 5,3
Agua intracelular (kg)	17,4 ± 4,6	18,0 ± 3,5	16,7 ± 3,2
Agua extracelular (kg)	17,0 ± 2,5	17,8 ± 2,2	17,1 ± 2,1
Hemoglobina (g/dL)***	11,7 ± 2,1	10,2 ± 1,1	14,4 ± 1,3
Hematocrito (%)***	35,5 ± 6,1	29,7 ± 6,3	43,3 ± 3,6
Linfocitos (células)*	2044 ± 751	1899 ± 835	2568 ± 632
Albúmina (g/dL)**	3,9 ± 0,7	3,5 ± 0,7	4,3 ± 0,4
IL-6 (ng/mL)*	9,8 ± 10,5	9,7 ± 6,6	3,2 ± 3,8
TNF-α (ng/dL)*	12,3 ± 11,6	9,4 ± 5,9	5,6 ± 2,9
PCRhs**	9,96 ± 7,86	10,10 ± 8,13	2,85 ± 2,21

IL-6: Interleucina 6; TNF-α: Factor de Necrosis Tumoral alfa; PCRhs: Proteína C Reactiva de alta sensibilidad.

Prueba de ANOVA. Prueba de Tukey como Post Hoc.

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,0001

Johnson, CA, USA). La biometría hemática completa se cuantificó en un Analizador Hematológico Sysmex XE-2100 (Sysmex Corp, Kobe, Japan).

La IL-6 humana y TNF-α humano se cuantificaron por ELISA, (Cayman Chemicals, Ann Arbor MI; USA), (IL-6: N° Cat. 583361; TNF-α: N° Cat. 589201). Las lecturas de los niveles de IL-6 y TNF-α se realizaron en un lector de Microelisa semiautomático (Organon Teknika Stipreader Microelisa System), a 450nm.

Parte de la sangre venosa extraída con EDTA se conservó en temperatura entre 4 y 8°C hasta la extracción del ADN de los leucocitos para la genotipificación del polimorfismo de la IL-6 mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

Extracción del ADN

El ADN se extrajo de los leucocitos de sangre periférica utilizando la técnica de Millar²⁶. En un tubo Eppendorff se colocaron 200 µL de sangre total homogeneizada, adicionando 200 µL de SDS al 1,6% y se mezcló por inmersión, agregando 80 µL de lisozima (20 mg/mL); se dejó reposar por 20 minutos a 37°C.

Posteriormente se agregaron 290 µL de acetato de amonio 7,5 M, mezclándolos e incubándose por 5 minutos a 37°C. Se agregó 770 µL de fenol se mezcló y agitó durante 1 minuto. A continuación se centrifugó por 10 minutos a 10000 revoluciones por minuto (rpm), recuperando el sobrenadante en un tubo Eppendorff nuevo y se agregó 850 µL de alcohol etílico absoluto, nuevamente se mezcló por

inmersión y se dejó en reposo por 5 minutos en hielo, para continuar centrifugando por 10 minutos a 10000 rpm.

Se decantó el sobrenadante y se procedió a lavar la pastilla de células, adicionando 250 µL de alcohol etílico al 70% mezclándolos suavemente, se drenó el exceso del alcohol y se dejó secar la pastilla en el concentrador, para finalmente resuspender la pastilla en 50 µL de solución para conservar el ADN.

La integridad del ADN, se corroboró por electroforesis en geles de agarosa al 0.6% teñidos con bromuro de etidio que fueron luego visualizados por luz ultravioleta.

Reacción en cadena de la polimerasa

Para la genotipificación por medio de la reacción en cadena de la polimerasa se utilizó ADN genómico y las secuencias de los oligonucleótidos para los polimorfismos de la IL-6 utilizados previamente por otros investigadores.²⁰ Se prepararon a la dilución deseada (10 pmol/µL) y se almacenaron a -20 °C hasta su utilización.

El volumen final usado para la reacción en cadena de la polimerasa fue de 20 µL, la que estuvo compuesta por 100 ng de ADN genómico, se utilizó 1 µL de cada oligonucleótido, cloruro de magnesio 1,5 mM, 2 µL de buffer 10X y de dNTP's (2,5 mM) y finalmente se agregó 1 U de Taq polimerasa y agua destilada desionizada para alcanzar el volumen deseado.

Los oligonucleótidos utilizados (ACE gene) para la reacción en cadena de la polimerasa tuvieron la secuencias:

- directa: 5'-AGACGGCCTTGAAGTAACTG -3'
- reversa: 5'-AACCAAAGATGTTCTGAACTGA -3'

La amplificación se realizó en termociclador (GeneAmp® PCR System 2700 Applied Biosystems) con 30 ciclos bajo las condiciones siguientes: un minuto a 96°C para desnaturalización, 30 minutos a 50°C para alineación, 1 minuto 30 seg a 72°C para extensión y 7 minutos a 72°C para extensión final.

Para la realización de la restricción enzimática se colocó en un tubo Eppendorff estéril 10 µL del producto obtenido de la reacción en cadena de la polimerasa, se añadió 2 µL de buffer, 10 U de la enzima de restricción BsrBI (New England Biolab Inc) y 7,5 µL de agua desionizada estéril para alcanzar un volumen final de 20 µL, incubándose por una hora a temperatura de 37°C. Los genotipos fueron caracterizados por 180 pb (G/C), 120/60 pb (C/C) y 180/120/60 pb (C/G).

Una vez terminada la incubación se realizó electroforesis en geles de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio, los genotipos se nombraron de acuerdo a la presencia o ausencia de sitios de restricción de la enzima. Las imágenes fueron tomadas con un analizador de imagen Eagle Eye II (Stratagene, USA).

Análisis estadístico

Las variables nominales se reportaron en frecuencias y porcentajes; las variables continuas en medias ± desviación estándar (DE). Las diferencias de las variables categóricas fueron analizadas por la prueba de χ^2 -cuadrada o prueba Exacta de Fisher cuando fue necesario. Las diferencias en las variables continuas fueron analizadas por Análisis de Varianza (ANOVA) seguido por la prueba de Tukey como Post-Hoc. Se calculó la razón de momios (OR) con el intervalo de confianza del 95 % (IC 95%) comparando las frecuencias alélicas de los grupos de estudio. La correlación de las variables se realizó con el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró de significancia estadística a

un valor de $p < 0,05$. Todos los cálculos se realizaron con el paquete estadístico SPSS Ver. 10,0 para Windows, Chicago, Illinois, USA.

RESULTADOS

A los 76 pacientes estudiados en cada grupo, -Grupo pre diálisis (n=31), -Grupo diálisis (n=22) y controles (n=31) se les realizaron todas las determinaciones propuestas. La tabla 1, muestra las variables clínicas y bioquímicas en la población estudiada.

La población fue homogénea en la edad, el sexo, el tiempo de evolución de la DM-2, la presión arterial, la glucosa y los lípidos séricos entre los grupos de estudio, y como cabía esperar se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y los otros grupos en las variables utilizadas para estudiar la función renal.

La tabla 2 muestra las variables nutricionales y de inflamación en la población estudiada. Los marcadores de desnutrición (masa grasa, hemoglobina [Hb], hematocrito [Ht], linfocitos y albúmina) fueron diferentes en los pacientes con ERC en pre diálisis y en DPCA ($p < 0,001$) respecto a los del grupo control; los marcadores de inflamación (IL-6, TNF- α , y proteína C reactiva de alta sensibilidad [PCRhs]) fueron también diferentes en los pacientes con daño renal en comparación al grupo control ($p < 0,05$).

La tabla 3 muestra las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo IL-6 634 C/G de la población estudiada. Solo se encontraron diferencias significativas en el grupo de pacientes con daño renal en prediálisis y en diálisis en comparación al grupo control ($p < 0,05$).

La tabla 4 muestra la asociación entre daño renal y los polimorfismos de IL-6 ajustados por edad, sexo, IMC y presión arterial. Únicamente el polimorfismo de la IL-6 634 C/G del gene que codifica para la IL-6 se asoció con un incremento en la susceptibilidad al deterioro en la función renal en los pacientes con IRC en tratamiento sustitutivo de la función renal con diálisis peritoneal (OR=1,77; IC95% 1,05-2,98).

Tabla 3. Frecuencias genotípicas y alélicas en la población de estudio

VARIABLE	Prediálisis (n=31)	Diálisis (n=22)	Control (n=23)
IL-6-634 C/G			
C/C	8 (25,8)	4 (18,2)	9 (39,1)
G/G	2 (6,4)	1 (4,5)	4 (17,4)
C/G	21 (67,8)*	17 (77,3)*	10 (43,5)
Frecuencia alélicas			
C	37 (59,7)	25 (56,8)	28 (60,9)
G	25 (40,3)	19 (43,2)	18 (39,1)

* $p < 0,05$, en comparación con el grupo control. Prueba de ANOVA. Prueba de Tukey como Post Hoc. Entre paréntesis se muestran los porcentajes correspondientes.

Tabla 4. Asociación de daño renal y polimorfismos de IL-6 ajustados por edad, sexo, IMC y presión arterial

Genotipo	OR ajustada	Intervalo de confianza del 95%	
		Límite superior	Límite inferior
Pacientes en pre diálisis			
IL-6-634 C/G			
C/G	1,55	0,91	2,63
C/C+G/G	0,51	0,3	1,06
C/C+T/T	1,07	0,82	1,39
Pacientes en diálisis			
IL-6-634 C/G			
C/G *	1,77	1,05	2,98
C/C+G/G	0,4	0,17	0,94

La figura 2 ilustra las imágenes representativas de los polimorfismos del gen que codifica para IL-6 en los sujetos de estudio. El polimorfismo IL6 634 C/G se asoció a deterioro de la función renal en pacientes con ERC (OR 1,77; IC 95% 1,05-2,98).

albúmina. También se observó una correlación directa entre la DCR y las variables: Hb, Hematocrito Ht, linfocitos y albúmina además de una correlación inversa entre DCR e IL-6.

DISCUSIÓN

La desnutrición ocasionada por los defectos de asimilación o utilización de los alimentos en presencia de hipercatabolismo e inflamación sistémica es común en pacientes con ERC, debido a varios factores asociados como la anorexia relacionada con la retención de toxinas urémicas, por la terapia de reemplazo renal, inadecuación de diálisis, además de que per se, esta terapia causa pérdida de nutrientes y además intervienen factores psicológicos, socioeconómicos y enfermedades agregadas.

Los resultados encontrados en este trabajo no difieren de lo reportado en estudios previos^{27,28} al encontrar niveles menores en las concentraciones de Hb, Ht y linfocitos en la biometría hemática, niveles menores en las concentraciones de albúmina sérica²⁹⁻³⁰ y un contenido menor en el porcentaje de grasa corporal en los pacientes con deterioro de la función renal en comparación a los controles.

La anemia en el paciente con ERC, puede ser secundaria a la disminución de la masa renal con una producción baja secundaria de eritropoyetina y la consecuente disminución de producción de eritrocitos. También se ha establecido que la hipoalbuminemia y la anemia son marcadores de desnutrición y se asocian con un incremento de la mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC en diálisis peritoneal.³¹⁻³⁴ La inflamación puede causar hipoalbuminemia por varios mecanismos entre ellos la supresión en la síntesis de albúmina provocando su transferencia del espacio vascular al espacio extravascular³⁵ y por una ingesta escasa de proteínas que ocasiona una disminución secundaria en la concentración de albúmina sérica.³⁴

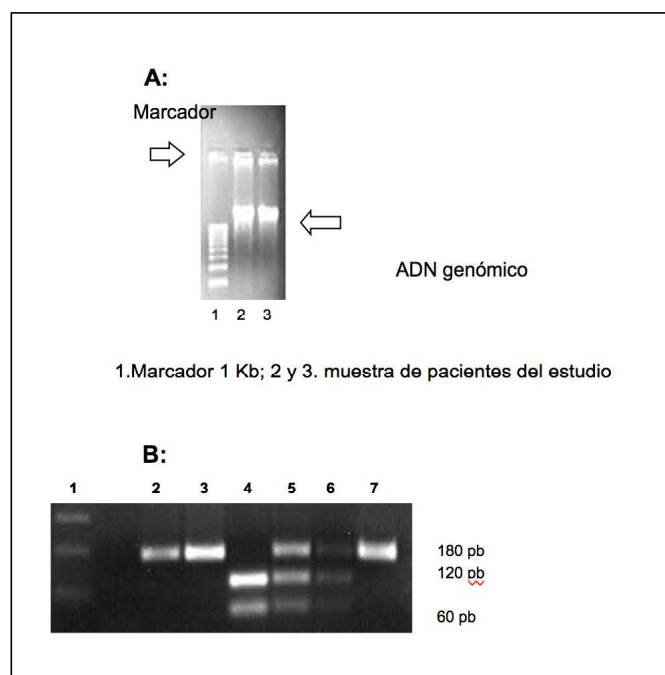


FIGURA 2: A Fotografía del gel donde se demuestra la integridad del ADN geonómico aislado de dos pacientes del grupo de estudio. B. Figuras que ilustran el polimorfismo del gene de la interleucina-6. La presencia de un banda de 180 pb indica homocigoto G/G y la presencia de una banda de 120 pb indica homocigoto C/C, mientras que los individuos que muestran las bandas de 180, 120 y 60 pb son los heterocigotos C/G.

La tabla 5 muestra las correlaciones entre las variables estudiadas. En ella se observa una correlación directa entre la MVI y la urea, IL-6 y TNF- α , una correlación inversa entre MVI y DCR, Hb, Ht, linfocitos y

Tabla 5. Matriz de correlación de Pearson entre las variables estudiadas

	MVI	Urea	DCr	Hb	Ht	Linfocitos	Albúmina	IL-6	TNF- α
Urea	,369**								
DCr	-,591**	-,638**							
Hb	-,438**	-,705**	,683**						
Ht	-,435**	-,597**	,644**	,871**					
Linfocitos	-,277*	-,424**	,410**	,432**	,382**				
Albúmina	-,316**	-,477**	,436**	,548**	,602**	,467**			
IL-6	,472**	0,21	-,347**	-0,195	-0,195	-,449**	-0,174		
TNF-a	,269*	0,047	-0,216	0,024	-0,02	-0,007	-0,03	,256*	
PCRhs	-,794**	,232*	,580**	-0,059	-0,038	-0,217	,290*	-,238*	-0,22

DCr: Depuración de Creatinina en 24 h. Hb: Hemoglobina; Ht: Hematocrito. IL-6: Interleucina 6. TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa; PCRhs: Proteína C reactiva de alta sensibilidad. MVI: Masa del ventrículo izquierdo.

* p<0,05; ** p <0,001

La patogénesis de la inflamación crónica sistémica en los pacientes con ERC se asocia también con el hipermetabolismo, pérdida de peso y además con el incremento sérico de citocinas proinflamatorias³⁶ y de reactantes de fase aguda como la PCR, la cual se asocia fuertemente a morbilidad cardiovascular.³⁴

Hay estudios que refieren que la elevación en los niveles séricos de IL-6 puede ser un marcador confiable para morbilidad y mortalidad cardiovascular en esta población.^{37,38} En este estudio, documentamos niveles séricos elevados de la IL-6 y de la PCRhs en los pacientes con ERC en pre diálisis y en DPCA como terapia sustitutiva de la función renal. Estudios previos reportan elevaciones séricas de la PCRhs en los pacientes con insuficiencia renal con y sin terapia sustitutiva.^{34,37} Los niveles séricos de PCRhs corresponden con la generación de citocinas pro-inflamatorias como la IL-6 y el TNF- α ; que además, se han reportado aumentados en pacientes con insuficiencia renal.³⁹ Se ha sugerido que concentraciones altas de estas citocinas pueden causar pérdida de músculo por estimulación del catabolismo de las proteínas vía ubiquitín-proteosoma, lo que se asocia con disminución de la síntesis de albúmina e inhibición del apetito.⁴⁰ La inflamación ocasiona el bajo gasto energético que es un factor contribuyente para la desnutrición en pacientes con insuficiencia renal.

Además, los niveles séricos bajos de albúmina con desnutrición y/o inflamación pueden incrementar la aterogénesis por elevación de estrés oxidativo que también acelera la pérdida de la función endotelial.^{41,42} La aterosclerosis es relacionada con la disfunción endotelial y la reducción de la bio-disponibilidad del óxido nítrico.⁴³ La hipoxia crónica tisular en pacientes con IRC conduce al aumento de gasto cardíaco para garantizar las demandas metabólicas del organismo.

La HVI es un importante factor relacionado con la mortalidad cardiovascular en pacientes con IRC que se someten a terapia sustitutiva de la función renal⁴⁴ y la prevalencia de la ECV es aproximadamente del 70 % en estos pacientes y el riesgo de morir por esta causa es 20 veces superior que en la población general.⁴⁵ La hipertrofia ventricular en los pacientes con ERC de nuestro estudio también fue significativa y se ha descrito que la prevalencia de la HVI está relacionada con el grado de pérdida de la función renal.⁴⁵ Nuestro estudio muestra que la MVI se asoció de una manera directa con el deterioro de la función renal y con la sobreexpresión de reactantes de fase aguda (PCRhs) y citocinas proinflamatorias (IL-6 y TNF- α) y sería conveniente evaluar el impacto de esta asociación a la mortalidad por enfermedad cardiovascular de pacientes con ERC.

Otros factores de riesgo para ECV comunes en pacientes con daño renal son los genéticos. Los polimorfismos tienen influencia significativa en la respuesta inmune, cuando regulan pasos importantes de ésta. Se ha observado que algunos de los polimorfismos de IL-6 se asocian con niveles séricos elevados de ésta citocina en pacientes con diálisis.^{46,47}

El polimorfismo de la IL-6 174 G/C, se ha reportado en enfermedades de las arterias coronarias en hombres con presión arterial alta⁴⁸ y en pacientes con HVI sometidos a diálisis.⁴⁹ El polimorfismo de la IL-6 634 C/G se encuentra presente en pacientes con nefropatía diabética. En este estudio se encontró que los pacientes con deterioro de la función renal atribuido a la diabetes mellitus en pre diálisis y en DPCA, el polimorfismo 634 C/G de la IL-6 fue más frecuente que en el grupo control.

La función renal que mantienen los pacientes con ERC una vez que son incluidos en el programa de diálisis se denomina Función Renal Residual (FRR) y tiene una gran importancia práctica. Su persistencia en

todos los aspectos, depurativa, endocrina y control del medio interno, contribuye de manera decisiva en el manejo del paciente en diálisis.⁵⁰ La FRR repercute en algunos de los factores pronósticos de estos pacientes como son la anemia y el estado nutricional.⁵¹ Los resultados de nuestro estudio sugieren que la inflamación y la desnutrición se asocian con el deterioro de la FRR al encontrar una relación directa entre estos marcadores y la caída de la tasa de filtración glomerular.

Limitaciones del estudio

Nuestro estudio tiene como limitaciones el no haber cuantificado otros marcadores importantes de desnutrición por ejemplo, la prealbúmina y la transferrina; ni haber cuantificado los niveles séricos de las enzimas pro y antioxidantes. Las mismas deberán ser motivo de análisis en otros estudios.

Es este un estudio preliminar cuyo principal mérito es visualizar la asociación entre marcadores tradicionales y no tradicionales de riesgo cardiovascular con la pérdida de la función renal en una serie de pacientes con diabetes mellitus a fin de orientar una estrategia integral, clínico, nutricional y psicoterapéutica en estos pacientes. Aunque no hay contribuciones a lo descrito en la literatura internacional sobre el tema, estos resultados nos ayudan a orientar acciones de salud para disminuir el impacto que muchos de estos factores de riesgo cardiovascular tienen sobre el pronóstico y calidad de vida de estos pacientes en unidades de atención primaria de nuestro Estado.

CONCLUSIONES

La desnutrición, la inflamación y el polimorfismo de la IL-6 634 C/G son marcadores a tener en cuenta en la evaluación del riesgo cardiovascular en pacientes mexicanos con ERC asociada a Diabetes Mellitus que están en pre diálisis y en diálisis peritoneal continua ambulatoria. Se necesita la planeación de estudios adicionales para valorar causalidad y relación con la uremia. Una perspectiva interesante es la evaluación de la expresión de genes relacionados con aterosclerosis y desarrollo de cardiopatía y la exploración de tratamientos farmacológicos que modifiquen su expresión. Deberá estudiarse igualmente los efectos clínicos y bioquímicos que se obtengan con la modificación de los trastornos de la nutrición, inflamación y el estrés oxidativo sobre la morbimortalidad cardiovascular y la preservación de la función renal residual en esta población y la contribución que tiene la asociación de MVI y sobreexpresión de proteínas inflamatorias (PCRhs y citocinas) a la mortalidad por enfermedad cardiovascular en pacientes mexicanos con ERC.

REFERENCIAS

1. Silberberg JS, Barre PE, Prichard SS, Sniderman AD. Impact of left ventricular hypertrophy on survival in end stage disease. *Kidney Int* 1989;36:286-290.
2. Molkenin JD, Dorn GW. Cytoplasmic signalling pathways that regulate cardiac

hypertrophy. *Ann Rev Physiol* 2001;63:391-426.

3. Passier P, Zeng H, Frey N, Nava FJ, Nicol RL, McKinsey TA, et al. CaM kinase signalling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *J Clin Invest* 2000;105(10):1395-1406.
4. Babu GL, Lalli JM, Sussman MA, Sadoshima J, Periasamy M. Phosphorylation of Elk-1 by MEK/ERK pathway is necessary for c-fos gene activation during cardiac myocyte hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:1447-1457.
5. Carreño JE, Apablaza F, Ocaranza MP, Jalil JE. Hipertrofia cardiaca: eventos moleculares y celulares. *Rev Esp Cardiol* 2006;59(5):473-483.
6. Hirota H, Yoshida K, Kishimoto T, Taga T. Continuous activation of gp130, a signal transducing receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice. *Proc Natl Aca Sci USA* 1995;92:4862-4866
7. Powel DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblast I. Paracrine cell, important in health and diseases. *Am J Physiol Cell Physiol* 1999;277(1):C1-19.
8. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:953-960.
9. Stenvinkel, P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55:1899-1911.
10. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: An integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 834-841.
11. Pecoito-Filho R, Lindholm B, Axelsson J, Stenvinkel P. Update on interleukin-6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1042-1045.
12. Rodríguez Orozco AR, Leyva JR, Alvarez AC, Córtez AM, Fariás RV. Enfermedad renal en el diabético. Bases inmunológicas de la fibrosis tubulointerstitial y la glomeruloesclerosis. Enfoque terapéutico actual. *Rev Alergia Mex* 2004;51:155-161.
13. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*, 2000;101:1767-1772.
14. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wascholder S, Ettinger Jr WH, et al. Association of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med*, 1999;106:506-512.
15. Bologna RM, Levine DM, Parker TS, Cheingh JS, Serur D, Stenzel KH, et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 1998;32:107-114.
16. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kononen PT, Kaartinen M, et al. Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2000;101:1372-1378.
17. Rus HG, Vlaicu R, Niculescu F. Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall. *Atherosclerosis*, 1996;127:263-271.
18. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis*, 2000;148: 209-214.
19. Rauramaa R, Sari B, Väisänen SB, Luong LA; Schmitt-Trücksäss A, Penttilä IM, et al. Stromelysin-1 and Interleukin-6 promotor polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000;20: 2657-2662.
20. Kitamura A, Hasegawa G, Obayashi H, Kamiuchi K, Ishii M, Yano M, et al. Interleukin-6

- polymorphism (-634C/G) in the promoter region and the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabet Med* 2002;19: 1000-1005
21. Klahr S. Mechanism of progression of chronic renal damage, *J Nephrol.* 1999;12 (suppl 2): S53-S62.
 22. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endotelial adhesión molecules: adipocyte-derived plasma proteína adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473-2476
 23. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2005;28:S37-S42
 24. Sahn DJ, DeMaría A, Kisslo J, Weyman A. The Committee on M-Mode standarization of the American Society of Echocardiography: recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiography measurements. *Circulation* 1978; 58:1072-1083.
 25. Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man: anatomic validation of the method. *Circulation* 1977;55:613-618.
 26. Miller SA, Dykes DD, Poleski HF. A simple salting out procedure fro extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleid Acid Res* 1988;16:1215-1221.
 27. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in haemodialysis patients; the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities: *Am J Kidney Dis* 1990;15:458-482
 28. Avram MM, Fein PA, Bonomini L, Mittman N, Loutoby R, Avram DK, et al. Predictors of survival in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: a five year prospective study. *Perit Dial Int* 1996; 16(suppl.1) S190-S194.
 29. Blumenkrantz MJ, Gahl GM, Kopple JD, Kamdar AV, Jones MR, Kessel M, et al. Protein losses during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1981;19:593-602.
 30. Kaysen GA, Dublin JA, Müller HG, Rosales LM, Levin NW. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in haemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;58:346-352.
 31. Avram MM, Goldwasser P, Erroa M, Fein PA. Predictors of survival in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: the importance of prealbumin and other nutritional and metabolic parameters. *Am J Kidney Dis* 1994;23:91-98.
 32. Struijk DG, Krediet RT, Koomen GCM, Boeschoten EW, Arisz L. The effect of serum albumin at the start of continuous ambulatory peritoneal dialysis treatment on patient survival. *Peritoneal Dial Int* 1994;14:121-126.
 33. Moshage HJ, Janssen JAM, Franssen JH, Hafkenscheid JCM, Yap SH. Study of the molecular mechanism of decreased liver synthesis of albumin in inflammation. *J Clin Invest* 1987;79:1635-1641.
 34. Bergström J, Heimbürger O, Lindholm B, Qureshi AR. Elevated serum C-reactive protein is a strong predictor of increased mortality and low serum albumin in hemodialysis (HD) patients. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:573.
 35. Pereira BJG, Shapiro L, King AJ, Flagas ME, Strom JA, Dinarello CA, plasma levels of IL-1 , TNF- and their specific inhibitors in undyalized chronic renal failure, CAPD and haemodialysis patients, *Kidney Int* 1994;45:890-896.
 36. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004;65:1009-1016.
 37. Panachi V, Maggiorie U, Taccola D, Migliori M, Manca Rizza G, Consani C, et al. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1154-1160.
 38. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho P, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006;47:139-148.
 39. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54:236-244.
 40. Bistrian BR, Schwartz J, Istfan NW. Cytokines muscle proteolysis, and the catabolic response to infection and inflammation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992;200:220-223.
 41. Cha MK, Kim IH. Glutathione-linked thiol peroxidase activity of human serum albumin: a possible antioxidant role of serum albumin in blood plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222:619-625.
 42. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allamn M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidants stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans. *Circulation* 1999;100:1611-1168.
 43. Werver R, Boer P, Hijmering M, Areowa E, Vwehaar M, Kastelein J, et al. Nitric oxide production is reduced in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1168-1172.
 44. Cohen JL, Barroah B, Segal KR. Two dimensional echocardiographic findings on hemodialysis. *Am J Cardiol* 1987;60:743-745.
 45. Foley RN, Parfery PS, Sarnak M. Cardiovascular disease in chronic renal disease: clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32(Suppl 3):S112-S119.
 46. Herbelin A, Urena P, Nguye AT, Zingraff J, Descamps-Laticha B. Elevated circulating levels of interleukin-6 patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1991;39:954-960.
 47. Fishman D, Faulsd G, Jeffrey R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the intereleukin-6 (IL-6) gene: their effect on IL-6 transcription and plasma IL-6 and association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369-1376.
 48. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS. The intereleukin-6 (IL-6) 174 G/C polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001;22:2219-2220.
 49. Losito A, Kalidas K, Santoni S, Jeffrey S. Association of Interleukin-6- 174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *Kidney Int* 2003;64:616-622.
 50. Bonomini V, Albertazzi A, Vangelista A, Bortolotti GC, Stefoni S, Scolari MP. Residual renal function and effective rehabilitation in chronic dialysis. *Nephron* 1976;16:89-102.
 51. Scanziani R, Desio B, Bonforte G, Surian M. Residual renal function and nutritional parameters in CAPD. *Adv Perit Dial* 1995;11:106-109.