

PREVALENCIA DE GENOTIPOS DE RIESGO G1 Y G2 DEL GEN APOL1 EN PACIENTES
AFRODESCENDIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA ATENDIDOS EN UNA
INSTITUCIÓN DE REFERENCIA DE CUARTO NIVEL DEL PACÍFICO COLOMBIANO

Leidy Lorena Díaz Ordóñez

Tutor:

Harry Pachajoa MD. PhD.

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
Santiago de Cali
2017

PREVALENCIA DE GENOTIPOS DE RIESGO G1 Y G2 DEL GEN APOL1 EN PACIENTES
AFRODESCENDIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA ATENDIDOS EN UNA
INSTITUCIÓN DE REFERENCIA DE CUARTO NIVEL DEL PACÍFICO COLOMBIANO

Leidy Lorena Díaz Ordóñez

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
MAGISTER EN BIOTECNOLOGÍA

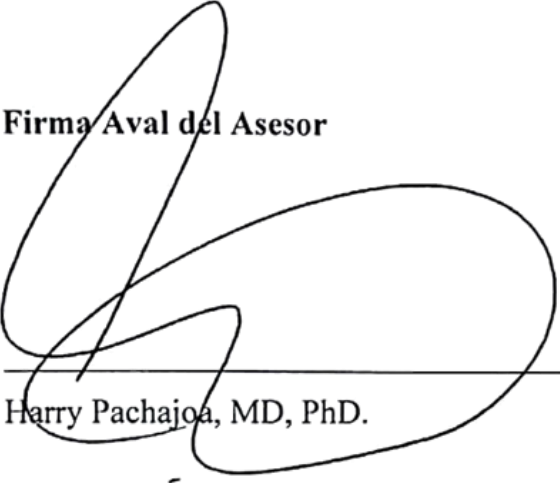
Tutor:

Harry Pachajoa MD. PhD.

Santiago de Cali

FIRMAS AVAL DEL CUMPLIMIENTO DE LOS OBJETIVOS DEL PROYECTO DE GRADO II

Firma Aval del Asesor



Harry Pachajoa, MD, PhD.

Firma del estudiante



Leidy Lorena Díaz Ordóñez

CONTENIDO

1. Contenido	
2. RESUMEN DEL PROYECTO	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
4. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	5
Planteamiento del problema	5
Objetivos.....	6
4.1.1. General.....	6
4.1.2. Específicos	7
Marco teórico y estado del arte	7
4.1.3. Estructura de la Apolipoproteína L1 (APOL1).....	7
4.1.4. Procesos biológicos de Apolipoproteína L1 (APOL1)	8
4.1.5. Patologías asociadas a alteraciones en APOL1	10
4.1.6. Contexto poblacional	17
Metodología.....	17
4.1.7. Tipo de estudio	17
4.1.8. Población de estudio	18
4.1.9. Tamaño de muestra	18
4.1.10. Fases del estudio	19
Cronograma de actividades	22
Presupuesto	23
5. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN	24
Resultados	24
5.1.1. Frecuencia alélica del gen APOL1	24
5.1.2. Frecuencias de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1	25
5.1.3. Hallazgos incidentales	27
6. DISCUSIÓN.....	28
7. CONCLUSIONES	32
8. BIBLIOGRAFÍA	34

9. ANEXOS.....	40
Anexo 1. Distribución de los genotipos de riesgo del gen APOL1 por municipio.....	40

2. Resumen del proyecto

Introducción: la Enfermedad Renal Crónica (ERC) representa una enfermedad de alto costo para el sistema de salud, debido a su carácter crónico, altas tasas de mortalidad y discapacidad reportadas, así como otras patologías que frecuentemente se derivan de la misma, tales como enfermedades mentales y cardio-cerebrovasculares. El Valle del Cauca es el departamento con mayor prevalencia de enfermedad renal crónica en Colombia. En los últimos años, múltiples estudios han asociado como causa genética de la ERC los llamados genotipos de riesgo G1 y G2, los cuales corresponden a mutaciones en el gen que codifica para la Apolipoproteína L1 (APOL1).

Métodos: Se incluyeron 102 pacientes afrocolombianos con diagnóstico clínico de enfermedad renal crónica. La genotipificación se llevó a cabo realizando la amplificación del exón 7 del gen APOL1. Para la identificación de los genotipos de riesgo se utilizó la herramienta bioinformática BLAST.

Resultados: Se encontró un predominio de los alelos de riesgo en el 68% de los individuos, frente a los alelos nativos G0, que representaron el 32% del total de la población estudiada. El municipio con mayor número de individuos portadores de dos alelos de riesgo fue Buenaventura, donde se reportan altos índices de endogamia. Se encontró una nueva variante que corresponde al genotipo p.V369E que podría estar relacionada con la nefropatía por APOL1.

Conclusiones: El 38% de los pacientes incluidos en este estudio presentó dos alelos de riesgo del gen APOL1, lo cual podría relacionarse con el desarrollo de ERC, mientras el 67% de la población estudiada presentó por lo menos un alelo de riesgo

Palabras clave: APOL1, Chronic Kidney Disease, risk genotype.

3. Introducción

En el año 2002, La National Kidney Foundation, de los Estados Unidos de América, definió la Enfermedad Renal Crónica (ERC) como un daño renal durante ≥ 3 meses, confirmado por biopsia renal o marcadores de daño renal, con o sin disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG); o una TFG < 60 mL/min-1 por 1.73m² durante ≥ 3 meses, con o sin daño renal. Esta patología representa una enfermedad de alto costo para el sistema de salud, debido a su carácter crónico. Las altas tasas de mortalidad y discapacidad reportadas, así como otras patologías que frecuentemente se derivan de la misma, tales como enfermedades cardio-cerebrovasculares (Ito et al., 2014; Toyoda, 2015; Toyoda & Ninomiya, 2014) .

En los últimos años, múltiples estudios han asociado como causa genética de la ERC, mutaciones en el gen que codifica para la Apolipoproteína L1 (APOL1), cuya función ha sido relacionada con la lisis del hemoparásito *Trypanosoma brucei*, (Pérez-Morga et al., 2005) así como con procesos autofágicos (Huang & Klionsky, 2007) y de regulación inmunológica en eventos inflamatorios (Zhaorigetu, Wan, Kaini, Jiang, & Hu, 2008). Se ha observado que estas mutaciones se presentan con mayor frecuencia en individuos de ascendencia africana, lo cual podría explicarse por la presencia endémica del hemoparásito *T. brucei* en este continente, lo que pudo haber ejercido una presión selectiva en los habitantes de esta región (Limou, Nelson, Kopp, & Winkler, 2014).

En Colombia, el Departamento Administrativo Nacional de Estadística reportó para el censo poblacional del 2005 un total de 4'311.757 de población autorreconocida como afrocolombiana. Esta cifra representa un 10.4% del total nacional, que se encuentra mayormente distribuida en los departamentos del Valle del Cauca y Chocó (Rojas, Ernesto; Fernandez, Pedro José; Gallo Mejía, Hatsblade; Serna Rios, Carmela; Poveda, 2007)

De acuerdo a estos antecedentes, se plantea la realización de un estudio observacional de corte transversal para determinar la frecuencia de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1 en pacientes autoreconocidos como afrodescendientes con ERC, atendidos en una institución de cuarto nivel de atención y centro de referencia para el Pacífico colombiano, con el fin de establecer

su posible asociación con dicha condición en nuestra población, así como establecer posibles regiones geográficas con mayor riesgo de desarrollar ERC relacionada con el componente genético.

4. Descripción del proyecto

Planteamiento del problema

En Colombia, la ERC se reconoce por ser una enfermedad de alto costo para el sistema de salud, debido a su carácter crónico, las altas tasas de mortalidad y discapacidad reportadas, así como otras patologías (cerebrales, cardíacas y vasculares), que se derivan de la misma. Adicionalmente, esta patología representa un alto impacto en salud pública, ya que su ocurrencia repercute, no solo en alteraciones fisiológicas sistémicas, sino también en la calidad de vida de los pacientes y sus familias, ya que, usualmente, se requiere la hemodiálisis como única herramienta terapéutica o incluso un trasplante renal que permita mejorar la expectativa de vida de los mismos.

Aunque en la actualidad se reconocen múltiples factores de riesgo asociados a la incidencia de ERC, en nuestra población no se conoce la influencia de la carga genética asociada a esta patología. Por lo anterior, es indispensable determinar la frecuencia de genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1 relacionados con el desarrollo de ERC, así como las regiones geográficas más afectadas, ya que este conocimiento podría trascender en la generación de nuevas herramientas diagnósticas, abordajes terapéuticos y estrategias de salud pública que permitan mitigar impacto de esta patología.

Para el año 2015, de acuerdo con un estudio realizado por el Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo, se identificaron 979.409 personas con ERC con una prevalencia de dos personas por cada 100 habitantes, siendo el Valle del Cauca el departamento con mayor número de casos reportados, presentando una prevalencia estimada por departamento de cuatro personas por cada 100 habitantes. Sin embargo, se desconoce si la alta prevalencia se debe a factores medioambientales (estilos de vida, políticas de salud pública, etc.) o podría estar asociada a

condiciones genéticas como los genotipos de riesgo G1/G2 del gen APOL1, teniendo en cuenta que el Valle del Cauca tiene un importante componente de ancestría genética africana.

De acuerdo con los datos publicados por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), para el censo realizado en el año 2005 más de la mitad de la población afrocolombiana del país, el 57,28% se concentró, en los departamentos del Valle del Cauca, Antioquia, Bolívar y Chocó y el 17,48% en Nariño, Cauca y Atlántico. Es importante mencionar que este censo utilizó el criterio de autorreconocimiento étnico para estimar estas poblaciones. En este estudio se postula que el componente genético es un factor determinante en el desarrollo de ERC, que debe ser caracterizado en nuestra población. Por lo tanto, el tipo de estudio planteado permitirá identificar las variantes alélicas de riesgo G1 y G2 del gen APOL1 presentes en la población del suroccidente colombiano, en el cual se conocerá la frecuencia de dichas variantes. Adicionalmente, este estudio facilitará la identificación de poblaciones con mayor riesgo de ERC asociada a factores genéticos, a través del mapeo geográfico de las variantes patológicas encontradas. Lo anterior se realizará con el fin de establecer regiones críticas para la planeación y desarrollo de políticas de atención en salud enfocadas a la disminución de las tasas de afectación por esta patología.

Se recomienda, además, hacer una descripción precisa y completa de la naturaleza y magnitud del problema, así como justificar la necesidad de la investigación en función del desarrollo del país o de su pertinencia a nivel mundial. Por otro lado, el investigador deberá identificar cuál fue el aporte del trabajo realizado a la generación de nuevo conocimiento sobre el tema en el ámbito nacional e internacional.

Objetivos

4.1.1. General

Identificar la frecuencia de genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1 en pacientes que se reconocen como afrodescendientes con enfermedad renal crónica, atendidos en una institución de referencia de cuarto nivel del pacífico colombiano.

4.1.2. Específicos

- Determinar la presencia de genotipos de riesgo G1 y/o G2 del gen APOL1 en una muestra de la población con ERC del pacífico colombiano.
- Establecer la distribución geográfica de las variantes alélicas patológicas del gen APOL1.

Marco teórico y estado del arte

4.1.3. Estructura de la Apolipoproteína L1 (APOL1)

La apolipoproteína L1 (APOL1, MIM: 603743) se caracteriza por tener cuatro dominios funcionales:

1. **Dominio N-terminal señal del péptido:** este dominio comprende el aminoácido 1 hasta el 27 y su función ha sido relacionada con el direccionamiento de la proteína hacia el exterior celular, es decir, que este dominio facilita la secreción extracelular (Lan et al., 2015). La APOL1 es la única proteína de la familia APOL1-6 que presenta en su estructura un dominio de señalización del péptido (Vanhollebeke & Pays, 2006).
2. **Dominio formador de poros:** comprende la región desde el aminoácido 60 hasta el 237, conformando una estructura de bucle hidrofóbico rodeado por un haz de alfa hélices anfipáticas que presenta similitud estructural con la colicina bacteriana, la toxina diftérica y la proteína Bcl-2 (Lan et al., 2015). Este dominio permite a la proteína la formación de poros aniónicos en la membrana celular (Pérez-Morga et al., 2005), especialmente iones de cloro, lo cual le confiere funciones líticas a través de la despolarización de membranas (Pays, Vanhollebeke, Uzureau, Lecordier, & Pérez-Morga, 2014).
3. **Dominio de direccionamiento de membrana:** abarca la región desde el aminoácido 283 hasta el 303 de la proteína (Lan et al., 2015). Este dominio presenta una conformación estructural de dos alfa hélices que se conectan y forman un bucle altamente sensible al pH del medio, ya que a pH neutro (en plasma sanguíneo) la estructura proteica expone una superficie hidrofóbica que facilita su asociación con el complejo HDL circulante. Sin

embargo, cuando el pH del medio se torna ácido (vesículas citoplasmáticas), ocurre un cambio conformacional que permite la liberación de la proteína del complejo formado con HDL y su direccionamiento hacia la membrana de la organela celular (Pays et al., 2014).

4. **Dominio de interacción con SRA:** se encuentra localizado en el extremo carboxilo de la proteína y cubre el aminoácido 339 hasta el 398, conformando una larga hélice alfa que contiene un cierre de leucina (Lan et al., 2015). Este dominio es de interés, ya que se ha propuesto como la región de interacción APOL1-SRA (proteína asociada a resistencia al suero), proteína que al ser sintetizada por algunos tripanosomas, a un pH ácido, se une fuertemente con APOL1 e interrumpe su inserción en la membrana lisosomal, lo que resulta en la inhibición de la acción tripanolítica de APOL1 (Uzureau et al., 2016).

4.1.4. Procesos biológicos de Apolipoproteína L1 (APOL1)

4.1.4.1. Muerte celular por autofagia

La autofagia es un proceso celular catabólico que implica la degradación de componentes celulares (fracciones de citosol u organelas) dentro de vacuolas con membranas dobles, (autofagosomas), que luego se fusionan con lisosomas para crear autolisosomas (Huang & Klionsky, 2007). Los autofagosomas y autolisosomas se conocen como vacuolas autofágicas y son consideradas organelas celulares de novo responsables de catabolizar el material autofágico a través de enzimas lisosómicas (Wan et al., 2008). Aunque el mecanismo de activación de autofagia por ApoL1 no se comprende completamente, se plantea que el dominio de formación de poros de esta proteína contiene una región BH3 o región de alta homología con la familia de genes Bcl-2 (Wan et al., 2008), la cual ha sido relacionada con la regulación de procesos de muerte celular programada.

Lo que se conoce, hasta ahora, es que la proteína ApoL1 induce procesos autofágicos, a través de la activación de la formación de vacuolas autofágicas, que termina conduciendo, en varias líneas celulares, a la muerte celular programada tipo 2 (Zhaorigetu et al., 2008). Adicionalmente, en la última década se comprobó que el gen p53 participa en la activación de la expresión de ApoL1, lo

cual permitió plantear que el proceso de muerte celular por autofagia es controlado por este gen (Zhaorigetu et al., 2008).

4.1.4.2. Inflamación en Aterosclerosis

La aterosclerosis se caracteriza por ser una enfermedad crónica inflamatoria de la pared arterial, donde los factores inflamatorios más importantes son el interferón- γ (INF- γ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), los cuales se encuentran altamente expresados en lesiones ateroscleróticas (Sana, Janatpour, Sathe, McEvoy, & McClanahan, 2005). En la última década se ha demostrado que estos factores inflamatorios (INF- γ y TNF- α) inducen la expresión de ApoL1 en células endoteliales, cuya disfunción es un signo precoz de aterosclerosis, lo cual sugiere que esta proteína tiene un papel importante en la respuesta inflamatoria y en la muerte celular en el endotelio vascular (Zhaorigetu et al., 2008).

4.1.4.3. Factor tripanolítico (inmunidad innata)

Los tripanosomas africanos son hemoparásitos intracelulares causantes de la enfermedad del sueño, estos microorganismos requieren lípidos exógenos para su metabolismo, por lo que las lipoproteínas séricas LDL y HDL funcionan como fuente primaria de estos compuestos (Coppens, Levade, & Courtoy, 1995).

Aunque el mecanismo exacto por el cual ApoL1 ocasiona la muerte del parásito aún se desconoce, se plantea que los tripanosomas, a través de su bolsillo flagelar, endocitan moléculas de HDL que circulan unidas a la proteína ApoL1. El complejo endocitado se cubre con una membrana de clatrina y forma el endosoma temprano (Pays et al., 2014); una vez que el pH del endosoma se acidifica, y se forma el lisosoma, ApoL1 se libera del complejo de HDL y se inserta en la membrana lisosomal, en la cual forma poros iónicos que permiten la entrada selectiva de aniones, particularmente iones cloruro, produciendo la inflamación osmótica del lisosoma y la muerte del parásito (Pérez-Morga et al., 2005).

El descubrimiento de la actividad tripanolítica del péptido ApoL1 circulante en los humanos, permitió su identificación como un nuevo componente de la inmunidad innata, al participar activamente como mecanismo de control de estas parasitemias (Pérez-Morga et al., 2005).

A pesar de lo anterior, en estudios más recientes no se ha encontrado un efecto protector del genotipo de riesgo G2 para la tripanosomiasis, lo cual permite inferir que el rol de estos genotipos en la respuesta inmune de la parasitemia no está del todo claro y que pueden existir factores de protección adicionales que aún se desconocen (Kimuda et al., 2018).

4.1.5. Patologías asociadas a alteraciones en APOL1

A pesar de la actividad antimicrobiana del péptido circulante ApoL1, los tripanosomas africanos han desarrollado mecanismos de resistencia que les permiten evadir el efecto lítico de esta proteína (Pays et al., 2014), resultando en su supervivencia y, por consiguiente, el desarrollo de la parasitemia.

Se plantea que, debido a procesos de selección natural, individuos portadores de variantes alélicas en el gen APOL1, sobreviven a la infección parasitaria. Lo anterior, puede explicarse por el cambio estructural que exhibe la proteína ApoL1 en su extremo carboxilo, el cual permite la evasión a los mecanismos de neutralización desarrollados por los tripanosomas (Vanhollebeke et al., 2006).

Entre las variantes alélicas en el gen APOL1 se encuentran los genotipos G1 y G2; el genotipo G1 se relaciona con el cambio en dos bases nitrogenadas en posiciones distintas que resultan en los cambios de aminoácidos I384M (Isoleucina por Metionina en la posición 384) y S342G (Serina por Glicina en la posición 342). Por otra parte, el genotipo G2 se relaciona con la delección de una secuencia de seis nucleótidos que resulta en la delección de dos aminoácidos: Asparagina y Tirosina en las posiciones 388 y 389 respectivamente (Tzur et al., 2010).

Estos cambios alélicos en el gen APOL1, lejos de constituir una ventaja evolutiva, representan un gran interés clínico ya que son reconocidos como genotipos de riesgo que contribuyen al desarrollo de Enfermedad Renal Crónica (Beckerman et al., 2017), y por tanto al progreso de alteraciones cerebrales y cardiovasculares, entre otras.

4.1.5.1. Enfermedad Renal Crónica

La ERC es una patología que implica la pérdida gradual de la función renal, ocasionando la acumulación de compuestos tóxicos que, en condiciones normales, deberían ser depurados de la circulación a través de los riñones (Thomas, Kanso, & Sedor, 2008).

Actualmente, se han identificado como patologías antecesoras de la ERC la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, sin embargo, cabe destacar que la ERC constituye una alteración sistémica donde confluyen diferentes factores de riesgo no solo medioambientales, sino también metabólicos y genéticos (Kazancıoğlu, 2013)

La nefropatía diabética se presenta comúnmente como una complicación de la diabetes mellitus (Lim, 2014), y a pesar de que no se conoce la causa exacta de su aparición, se han postulado varios mecanismos, entre los que se destacan la glicosilación no enzimática de proteínas (Nawale, Mourya, & Bhise, 2006) y la activación de citoquinas por hiperglicemia (Esposito et al., 2002).

La glicosilación no enzimática de proteínas ocurre cuando hay una gran concentración de glucosa plasmática que no ingresa a las células (ya sea por falla en los receptores o por producción de insulina defectuosa) cuando tejidos como hígado, musculo esquelético y tejido graso, principalmente, no perciben la insulina y, por tanto, no hay captación de glucosa, de tal forma que, se produce un estado de hiperglicemia. La unión de estas proteínas glicosiladas a los receptores glomerulares, promueve la formación de radicales libres de oxígeno que generan estrés oxidativo en las células endoteliales y contribuyen al daño renal (Nawale et al., 2006).

Adicionalmente, la resistencia a insulina en tejido muscular y adiposo conduce a lipólisis, contribuyendo con la hiperlipidemia e hiperglicemia. Estos niveles elevados de glucosa y ácidos grasos saturados en la sangre crean un medio inflamatorio que activa el sistema inmune innato, a través de la producción de proteínas glicosiladas. Estas proteínas modificadas activan mediadores inflamatorios como interleucina 1L-1 β , factor de crecimiento transformante TGF- β y factor de necrosis tumoral TNF- α , que conllevan a la hipertrofia celular y al aumento de la matriz extracelular, produciendo esclerosis glomerular (Borst, 2004).

Por otra parte, otra de las patologías reconocidas como antecesora de la ERC es la hipertensión arterial (HTA), ya que durante el curso de este trastorno se disminuye la elasticidad de las grandes arterias, de modo que, se reduce el suministro de sangre que llega al tejido renal, y por ende se desencadena un daño glomerular. Además, la ERC se caracteriza por retención de sodio y agua, lo que aumenta el volumen plasmático y el gasto cardíaco. Adicionalmente, el desbalance de sustancias vasoactivas (activación de vasoconstricción y disminución de producción de vasodilatadores) promueve la perpetuación de la HTA (Monhart, 2013).

4.1.5.1.1. Enfermedad Renal Crónica asociada a APOL1

Durante la última década, varias publicaciones han presentado evidencias sólidas entre la relación de los genotipos de riesgo G1 y G2 y la ocurrencia de ERC con un patrón de herencia autosómica recesiva (Foster et al., 2013; Friedman, Kozlitina, Genovese, Jog, & Pollak, 2011; Reiner & Susztak, 2016). Adicionalmente, un estudio realizado por Genovese y cols. en el año 2010, en el que se realizó un análisis de asociación entre las secuencias de diferentes poblaciones con patología renal, obtenidas del proyecto 1000Genomas, encontró que las variantes G1 y G2 contribuyen al aumento del riesgo de enfermedad renal en la población afrodescendiente.

A pesar de lo anterior, hay pocos estudios que comprueben esta asociación a través de modelos in vivo, uno de ellos realizado por Anderson y cols. en el año 2015, comprueba que la alteración del gen ortólogo de APOL1 en pez cebra (*Zebra fish*) se relaciona con el desarrollo de nefropatía.

En el año 2017, Beckerman y cols. comprobaron que la expresión de los alelos de riesgo del gen APOL1 en un modelo murino, causa una función renal alterada y enfermedad renal. A pesar de que el mecanismo fisiopatológico no está del todo claro, este estudio aporta evidencias consistentes de los cambios funcionales (albuminuria y azoemia) y estructurales (pérdida de procesos podócitos y glomeruloesclerosis) que desarrollaron los ratones, al tener en sus podocitos la expresión de alelos de riesgo del gen APOL1. Adicionalmente, se propone que el desarrollo de la enfermedad renal, así como la gravedad, se correlaciona positivamente con el nivel de expresión de los alelos de riesgo, y que, probablemente, el desarrollo de la patología es reversible, lo cual plantea un nuevo escenario, donde se consideraría la modulación de la expresión de este gen, como un futuro objetivo terapéutico (Beckerman et al., 2017).

4.1.5.1.1.1. Mecanismos moleculares implicados en el daño celular

Actualmente se reconocen varios mecanismos por los cuales las variantes de riesgo del gen APOL1 alteran la función de los podocitos y células microvasculares, sin embargo, se requieren más estudios para confirmar cuál de estas vías celulares son activas y relevantes para la lesión renal en pacientes con nefropatías por APOL1.

a. Sobreexpresión del gen APOL1

La expresión del gen APOL1 está impulsada por dos vías de reconocimiento: una que es dependiente del receptor tipo TLR (Toll Like Receptor) y la otra que se debe a receptores de reconocimiento que inducen interferón (Kopp et al., 2011), lo cual explica por qué los africanos con VIH, portadores de dos copias de los alelos de riesgo APOL1 tienen 89 veces más posibilidades de desarrollar HIVAN que los controles con VIH negativo (Kasembeli et al., 2015). Además respalda la idea de que los virus y quizás otras infecciones crónicas o la inflamación persistente pueden ser factores desencadenantes de la nefropatía por APOL1 (Nichols et al., 2015).

El aumento de la expresión de APOL1 en los podocitos se asocia con lesión celular y daño glomerular, ya que solo las células que expresan niveles elevados de proteína Apol1 pueden ser más susceptibles al efecto citotóxico de sus formas variantes de riesgo, lo cual explica por qué sólo los individuos con dos copias de los alelos de riesgo APOL1 desarrollan nefropatía (Olabisi et al., 2016). Esta teoría sugiere entonces que el factor determinante en el daño celular es la cantidad de proteína Apol1 producida y mantenida de forma estable en células renales vulnerables, como podocitos o endotelio glomerular.

b. Activación de canales de cationes

Un mecanismo que podría explicar la citotoxicidad inducida por los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1 fue propuesto en el 2016 por Olabisi et al., este modelo plantea que los poros en la membrana formados por la proteína Apol1 aberrante median un mayor flujo de salida de potasio intracelular, lo que lleva a su depleción intracelular y esta una condición causa la activación de la

proteína quinasa activada por estrés (SAPK), p38 y JNK, que finalmente causan toxicidad y muerte celular (Olabisi et al., 2016).

Esta teoría parece prometedora, ya que en estudios experimentales de animales con glomerulopatías, se ha demostrado que la activación de p38 o JNK es necesaria para la lesión podocitaria y la proteinuria (Koshikawa et al., 2005; Ma, Liu, & Nikolic-Paterson, 2009), por lo que la inhibición de sus actividades podría convertirse en un blanco terapéutico al contribuir con la reducción de la toxicidad mediada por variantes de APOL1 en humanos (Willette et al., 2009).

c. Activación de inflamosoma

Las variantes de riesgo G1 y G2 en comparación con la variante G0 promueven las vías proinflamatorias intracelulares en podocitos a través de la activación del inflamosoma por su unión a NLRP3, lo que da como resultado una mayor liberación de caspasa-1 que termina activando las vías de muerte celular inflamatoria, incluida la piroptosis (Heymann, Winkler, Hoek, Susztak, & Kopp, 2017).

En la piroptosis, la caspasa1 activa escinde la interleucina 1 β (IL-1 β) en una proteína madura y activa que eventualmente se escapa de la célula. Estudios recientes demuestran que el nivel de IL-1 β madura se incrementa en el medio de las células que expresan los alelos de riesgo de APOL1 en comparación con las células de referencia y que los inhibidores de caspasa-1 disminuyen la citotoxicidad inducida por los alelos de riesgo, comprobando que la piroptosis contribuye a la toxicidad en la nefropatía por APOL1 (Beckerman et al., 2017).

4.1.5.1.2. Implicaciones de APOL1 en trasplante renal

La enfermedad renal crónica puede progresar a enfermedad renal terminal (ERT) siendo necesario el trasplante renal. Estudios anteriores han descrito que los riñones donados por afroamericanos tienen un periodo de funcionalidad más corto que aquellos riñones que son donados por americanos de ascendencia europea (Callender et al., 2009). Ante la necesidad de identificar si esta diferencia en las tasas de supervivencia al aloinjerto renal, está determinada por la presencia de variantes de riesgo en el gen APOL1, Reeves y cols. publicaron en el año 2011 un estudio que demuestra que existe una sobrevida del aloinjerto renal significativamente más corta en pacientes

que recibieron riñones de donantes fallecidos afroamericanos con dos variantes de riesgo en el gen APOL1 en comparación con pacientes que recibieron riñones de donantes afroamericanos con menos de dos de estas variantes de riesgo. Este estudio sugiere que el genotipo de APOL1 del donante, y no del receptor, genera mayor impacto en el fracaso del injerto proveniente del donante fallecido.

Otras investigaciones avalan los anteriores resultados, agregando que la mayoría de las pérdidas de aloinjerto renal, en los receptores de donantes afroamericanos con genotipos de riesgo del gen APOL1, ocurrieron tempranamente (dentro de los dos años posteriores al trasplante). Lo anterior permite proponer que las variantes de riesgo del gen APOL1 asociadas con nefropatía (G1/G1, G1/G2 y G2/G2), podrían servir como factor de predicción de supervivencia del aloinjerto renal (Freedman et al., 2016).

4.1.5.2. Alteraciones cerebrales

Cuando la insuficiencia renal crónica progresa hasta que los riñones funcionan permanentemente a menos del 10% de su capacidad, aparecen graves problemas neurológicos (encefalopatía urémica, encefalopatía hipertensiva y síndrome de desmielinización osmótica), lo cual empeora significativamente el pronóstico y aumenta la tasa de mortalidad de la enfermedad (Bai et al., 2016).

Aunque los mecanismos fisiopatológicos que contribuyen al desarrollo de alteraciones cerebrales causadas por ERC aún se desconocen, se ha planteado que la acumulación de compuestos nitrogenados como la creatinina sérica (SCr) y el nitrógeno ureico (BUN), generan un cambio en el gradiente de concentración de urea, lo cual podría conducir a un mayor gradiente osmótico entre el plasma y el líquido intersticial o líquido cefalorraquídeo, lo que podría resultar en edema cerebral (Galons, Trouard, Gmitro, & Lien, 1996). Un argumento que soporta esta teoría es que, en los pacientes con enfermedad renal terminal, se ha encontrado una correlación positiva entre los valores de BUN y las pruebas imagenológicas de difusión (media, axial y radial), las cuales reflejan la capacidad de difusión de agua en el tejido y por ende su integridad. Por consiguiente, se propone que el edema ocasionado por el aumento de BUN, facilita la difusión de las moléculas de agua (Bai et al., 2016).

Adicionalmente, se ha demostrado que la difusión aumenta cuando las regiones cerebrales experimentan una combinación de desmielinización, pérdida de axones, gliosis e inflamación (Alexander, Lee, Lazar, & Field, 2007). Por tanto, el aumento de difusión podría reflejar la disminución de la densidad de la membrana y/o aumento del volumen extracelular causado por la pérdida de axones y mielina (Bai et al., 2016).

Algunos de los componentes del sistema límbico (amígdala bilateral y corteza cingulada anterior) en pacientes con ERC, han demostrado tener valores más altos de difusión, por lo que se plantea que la ERC podría contribuir al desarrollo de numerosas enfermedades neuropsiquiátricas y particularmente depresión y ansiedad (Bai et al., 2016).

Finalmente, estudios realizados para evaluar los efectos cerebrales de la ERC demuestran que los ratones con esta patología presentan anomalías de comportamiento que podrían reflejar síntomas como la depresión y la ansiedad. Adicionalmente, se demostró que en este modelo animal, la ERC causa disrupción de la barrera hematoencefálica (BHE), lo cual podría ser explicado por la hipoxia inducida por la deficiencia de eritropoyetina, el desequilibrio de electrolitos y el edema cerebral, que contribuyen al daño de la BHE (Mazumder, Giri, Kumar, & Borah, 2016).

4.1.5.3. Patologías cardiovasculares

En la actualidad, estudios señalan que la enfermedad cardiovascular es la causa principal de muerte temprana en pacientes con ERC (Matsushita et al., 2010).

Múltiples factores fisiológicos explican la relación entre patología cardiovascular y ERC, por ejemplo, la retención de agua y sodio que se produce en los pacientes con daño renal, genera expansión en el volumen del líquido extracelular, de tal forma que, hay un aumento proporcional del gasto cardíaco y la presión arterial, que a su vez contribuyen al aumento de la resistencia periférica total y por tanto a la aparición de patología cardiovascular (Tomey & Winston, 2014).

Por otra parte, la activación del sistema Renina, Angiotensina y Aldosterona (RAA) promueve significativamente al depósito de matriz extracelular, fibrosis, disfunción diastólica y alteraciones en el manejo del calcio de los cardiomiocitos, factores que predisponen a las despolarizaciones cardíacas (Leopold, 2011). Adicionalmente, la anemia secundaria al déficit de eritropoyetina en

ERC, se ha asociado, hipotéticamente, con la disminución de la capacidad de transporte y suministro de oxígeno al tejido cardiaco, lo cual conduciría a hipoxia y muerte celular (van der Putten, Braam, Jie, & Gaillard, 2008). Sin embargo, esta relación causal aún no está clara y se requieren mayores estudios para comprender los mecanismos que explican la asociación (Tomey & Winston, 2014).

Por último, la ERC conduce a hiperkalemia que ha sido asociada a la disminución de la conducción cardiaca a través de diferentes efectos, entre los cuales se encuentran la disminución del potencial de membrana en reposo de los cardiomiocitos, retardo en la conducción del impulso, prolongación de la despolarización de membrana y acortamiento del tiempo de repolarización (Parham, Mehdiraz, Biermann, & Fredman, 2006).

4.1.6. Contexto poblacional

El abordaje del presente estudio respecto a la población objetivo, que corresponde a sujetos auto-reconocidos como afrodescendientes, se relaciona directamente con una mayor probabilidad de identificar portadores de las variantes de riesgo del gen APOL1, en concordancia con estudios internacionales que han demostrado que los individuos con ascendencia africana tienen un riesgo aumentado a desarrollar enfermedad renal crónica asociada a variantes alélicas del gen APOL1 (Genovese et al., 2010). Por lo anterior, lejos de establecer un sesgo racial, la selección de los participantes del estudio permitirá establecer poblaciones geográficas con mayor riesgo de desarrollar ERC asociada a factores genéticos, que servirá de base para plantear y priorizar políticas públicas que faciliten un diagnóstico precoz, contribuyendo de este modo a la disminución de la incidencia de patologías cerebro-cardiovasculares derivadas de la ERC.

Metodología

4.1.7. Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo sin prueba de hipótesis. Se definieron los pacientes afrodescendientes, con diagnóstico de ERC (daño renal durante ≥ 3 meses, confirmado por biopsia

renal o marcadores de daño renal, con o sin disminución de la TFG; o una TFG $< 60\text{mL}/\text{min}-1$ por 1.73m^2 durante ≥ 3 meses, con o sin daño renal) trasplantados o a la espera de trasplante renal.

4.1.8. Población de estudio

La población objetivo fueron individuos de sexo masculino o femenino, mayores de 18 años, auto-reconocidos como afrocolombianos diagnosticados con enfermedad renal crónica trasplantados o a la espera de un trasplante renal.

Los pacientes que decidieron ser partícipes del estudio se tamizaron mediante una encuesta. La información de los pacientes tamizados se guardó en la base de datos de la entidad hospitalaria. Con la información obtenida se determinó el cumplimiento de los criterios de inclusión del estudio.

En la siguiente tabla se presentan los criterios de selección (inclusión y exclusión) del estudio:

<i>Criterios de inclusión</i>	<i>Criterios de exclusión</i>
1. Paciente auto-reconocido como afrodescendiente	1. Paciente que curse con alguna de las siguientes patologías: aplasia medular, leucopenia.
2. Mayores de 18 años.	
3. Paciente que acepta ser incluido en el estudio mediante consentimiento informado.	
4. Paciente con diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica que no curse con ningún antecedente de importancia que explique el desarrollo de la ERC (diabetes mellitus, Lupus, etc.)	
5. Paciente con trasplante renal o candidato a trasplante renal	

4.1.9. Tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de la muestra, se utilizó el software OpenEpi, versión 3, disponible en <http://www.openepi.com/SampleSize/SSCC.htm>. Los parámetros para el cálculo se presentan en la siguiente tabla.

Tamaño de la muestra para la frecuencia en una población

Tamaño de la población (para el factor de corrección de la población finita o fcp)(N):	100
frecuencia % hipotética del factor del resultado en la población (p):	50% +/- 5
Límites de confianza como % de 100(absolute +/- %)(d):	5%
Efecto de diseño (para encuestas en grupo-EDFF):	1

Tamaño muestral (n) para Varios Niveles de Confianza

Intervalo Confianza (%)	Tamaño de la muestra
95%	80
80%	63
90%	74
97%	83
99%	88
99.9%	92
99.99%	94

Ecuación

Tamaño de la muestra $n = \frac{EDFF \cdot N \cdot p(1-p)}{[(d^2/Z^2_{1-\alpha/2} \cdot (N-1) + p \cdot (1-p))]}$

Resultados de OpenEpi, versión 3, la calculadora de código abierto SSPropor

Imprimir desde el navegador con ctrl-P

o seleccione el texto a copiar y pegar en otro programa

4.1.10. Fases del estudio

4.1.10.1. Fase pre-analítica

La muestra poblacional se definió como 102 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión al estudio. La toma de muestra se realizó en las instalaciones de la Fundación Valle del Lili, en la ciudad de Cali.

4.1.10.2. Fase analítica

Previo aprobación del consentimiento informado por el comité de ética institucional, firma del mismo por el paciente, se procedió a la toma de muestra de 4mL de sangre periférica que fue tomada en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA (tubos tapa lila).

Extracción de ADN

La extracción de ADN genómico se realizó usando el kit de extracción E.Z.N.A® Tissue DNA Kit (Omega Bio-tek) a partir de una muestra de 250 µl de sangre, según las instrucciones del fabricante. Se obtuvo dos muestras por cada paciente incluido en el estudio. El ADN obtenido fue cuantificado por espectrofotometría en un equipo Nanodrop2000® UV-Vis Spectrophotometer (ThermoFisher Scientific). Asimismo, la calidad del ADN obtenido se evaluó de acuerdo a las relaciones A260/280 y A260/230 obtenidas.

Amplificación del exón 7 del gen APOL1

Se emplearon los primers forward: 5'-ACCAACTCACACGAGGCATT-3' y reverse: 5'-CTGCCAGGCATATCTCTCCT-3' reportados previamente por Limou et al., 2015 para la amplificación de la región de interés. Estos oligonucleótidos fueron sintetizados por MacroGen y amplifican una región de 421 nucleótidos del exón 7 del gen APOL1.

La amplificación se llevó a cabo mediante una PCR convencional en un volumen final de 25µL conteniendo Buffer 1X, MgCl₂ 2mM, 0,4mM de cada uno de los primers, 0.2mM dNTPs, 0.5 U de Taq polimerasa (Invitrogen®) y 100 ng de ADN por reacción.

Se usó el termociclador Swift™ MiniPro Thermal Cycler (ESCO), empleando las siguientes condiciones: un primer paso de desnaturalización a 95°C por 5 minutos, un segundo paso de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, hibridación a 62°C por 40 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos. Finalmente, un paso de extensión a 72°C por 10 minutos.

Electroforesis en gel de agarosa

Los amplificados obtenidos se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,0%, 80 V por 30 minutos y utilizando el marcador de peso molecular MassRuler® DNA ladder Low Range (ThermoFisher Scientific). Se empleó el agente intercalante SYBR Safe® para la visualización de los productos. Este procedimiento se llevó a cabo únicamente para comprobar la especificidad de la reacción y con ello evitar la interferencia de productos inespecíficos en la reacción de secuenciación.

Purificación de los productos de amplificación

Utilizando el kit EZNA® Cycle Pure Kit (Omega Bio-tek) se realizó la purificación de los productos de la amplificación por PCR (amplificados), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, obteniendo finalmente el producto purificado para secuenciar.

Secuenciación y análisis de las secuencias obtenidas

Para la secuenciación se empleó 1µL de producto purificado por reacción y 0.4uL de primer (forward o reverse) a una concentración de 10pmol/µL. Para cada amplificado se realizaron dos reacciones de secuencia empleando los primers forward y reverse mediante el kit de secuenciación Big Dye Terminator 3.1 (ThermoFisher Scientifics), siguiendo instrucciones del fabricante.

Los productos de la reacción de secuencia se purificaron nuevamente usando el kit Big Dye® XTerminator™ Purification kit (ThermoFisher Scientifics) y fueron analizados en un secuenciador ABI prism 3500 (Applied Biosystems).

La revisión de los parámetros de calidad de los electroferogramas obtenidos, como la asignación de bases, se realizó en el programa Sequencing Analysis v6.0 (ThermoFisher Scientifics). Los análisis de las secuencias se realizaron mediante la herramienta bioinformática Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), que permitió alinear los resultados obtenidos frente a la secuencia de referencia NG_023228.1 y las diferencias encontradas (variantes génicas) fueron reportadas para cada muestra.

4.1.10.3.Fase post-analítica

Se calculó la frecuencia de los genotipos de riesgo G1/G2 del gen APOL1 en pacientes adultos como un porcentaje, tomando el número de pacientes con al menos dos alelos de riesgo para enfermedad renal crónica sobre el número total de pacientes analizados. Adicionalmente, se realizó un mapeo de las variantes de riesgo encontradas, tanto G1 como G2, de acuerdo a su localización geográfica.

Los resultados de este estudio no serán comunicados a los participantes, puesto que estos ya tienen enfermedad renal crónica, por tanto, dicho resultado no resultará en el compromiso del estado de salud de los mismos.

Cronograma de actividades

ACTIVIDAD / MESES	2017				2018		
	Ene-Mar	Abr-Jun	Jul-Sep	Oct-Dic	Ene	Feb	Mar
Solicitud de cotizaciones y compras	X						
Selección de participantes y firma de consentimiento informado	X	X	X	X			
Toma de muestras de participantes	X	X	X	X			
Estandarización de pruebas biología molecular	X						
Extracción de ADN	X	X	X	X			
Estudios de PCR				X			
Secuenciación Sanger				X			
Preparación de manuscrito					X		
Revisión por parte de tutores						X	
Preparación de manuscrito final							X

Presupuesto

TIPO	TOTAL
RECURSOS HUMANOS	
Personal científico	\$ 45.062.763,00
EQUIPOS	
Termociclador	\$ 1.500.000,00
Cabina bioseguridad	\$ 1.300.000,00
Transiluminador	\$ 2.800.000,00
Centrifuga refrigerada	\$ 2.450.000,00
Pipetas multicanal	\$ 2.300.000,00
Nanodrop	\$ 2.500.000,00
3500 analizador genético	\$ 31.400.000,00
Balanza analítica	\$ 300.000,00
Centrifuga minispin	\$ 300.000,00
VORTEX	\$ 240.000,00
REACTIVOS Y MATERIALES	
Descartables	\$ 13.593.000,00
Reactivos extracción	\$ 3.629.706,00
Reactivos amplificación	\$ 3.200.000,00
Reactivos secuenciación	\$ 17.100.000,00
TOTAL	\$ 127.675.469,00

5. Desarrollo de la investigación

Resultados

5.1.1. Frecuencia alélica del gen APOL1

Los resultados de las secuencias del exón 7 del gen APOL1 de los 102 participantes fueron tabulados, obteniendo un panorama global de la distribución de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1, así como los genotipos de bajo riesgo o wild type (G0). La frecuencia de los genotipos se relaciona en la tabla 1.

Tabla 1. Frecuencia alélica del gen APOL1

<i>Alelos G1</i> <i>rs73885319</i>	<i>Alelos G2</i> <i>rs71785313</i>	<i>Genotipo</i>	<i>Pacientes</i>
-	-	G0	33
<i>Heterocigoto</i>	-	G1	25
<i>Homocigoto</i>	-	G1	21
<i>Heterocigoto</i>	<i>Heterocigoto</i>	G1/G2	14
-	<i>Heterocigoto</i>	G2	6
-	<i>Homocigoto</i>	G2	3

Desde el punto de vista genotípico, se encontró un predominio de los alelos de riesgo (G1 y G2) en el 68%, frente a los alelos nativos (G0), que representaron el 32% del total de la población estudiada.

En este estudio, el genotipo de riesgo G1 fue el más frecuente, ya que el 45% del total de la población estudiada porta esta mutación en por lo menos uno de los alelos. Adicionalmente, el 14% de la población es portadora del alelo G1 acompañado del alelo G2 en heterocigosis. No se encontraron pacientes portadores de los alelos G1 y G2 en homocigosis. El genotipo de riesgo G2 se encontró como alelo único en el 9% de la población.

Por otra parte, de los 33 pacientes encontrados con alelos nativos (G0) el 66,67% pertenecen al departamento del Valle del Cauca y el 21,21% al Cauca. Para los 9 pacientes con el genotipo G2, la distribución geográfica se comportó igual, con la mayor frecuencia en el valle del cauca (67%).

Para los 46 pacientes con el genotipo G1, se encontró la mayor frecuencia en el Valle del Cauca (50%) seguido por Nariño (21.74%) y Cauca (19.57%) (Tabla 2.).

Tabla 2. Distribución geográfica de los genotipos del gen APOL1.

<i>Departamento</i>	<i>Cauca</i> N= 24	<i>Chocó</i> N= 5	<i>Nariño</i> N= 16	<i>Valle</i> N= 55	<i>Otros</i> N= 2
<i>G0</i>	7%	2%	1%	22%	1%
<i>G1</i>	9%	3%	10%	23%	1%
<i>G1/G2</i>	5%	0%	5%	4%	0%
<i>G2</i>	3%	0%	0%	6%	0%

5.1.2. Frecuencias de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1

Teniendo en cuenta que la falla renal secundaria a mutaciones en el gen APOL1 se considera una patología con un patrón de herencia autosómico recesivo, se realizaron los análisis para los pacientes con dos alelos de riesgo, es decir, aquellos con genotipo G1 o G2 en homocigosis y G1/G2 en heterocigosis, los cuales representan el 37% de la población de estudio (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1.

<i>Genotipo de riesgo</i>	<i>N° de pacientes</i>	<i>Porcentaje (%)</i>	<i>Frecuencia*</i>
<i>G1</i>	21	20,58	3 de 10
<i>G1/G2</i>	14	13,73	
<i>G2</i>	3	2,94	2 de 10

* Se realizó el cálculo de frecuencia poblacional, ya que los alelos mixtos (G1/G2) deben ser tenidos en cuenta para los genotipos de riesgo G1 y G2 de forma independiente

Se evidenció un predominio del genotipo de riesgo G1, con una frecuencia poblacional de 3 por cada 10 participantes, mientras que el genotipo de riesgo G2 presentó una frecuencia de 2 por cada 10 participantes en el estudio (Tabla 3). La frecuencia global de la población a riesgo fue de 4 por cada 10 participantes.

La mayor frecuencia para el genotipo de riesgo G1 se localizó en el departamento del Valle del Cauca (42,86%), seguido por Nariño (28,57%) y Cauca (14,29%). Los pacientes homocigotos para el genotipo de riesgo G2 se localizaron exclusivamente en el departamento del Cauca, mientras que los genotipos mixtos (G1/G2) se localizaron principalmente en Cauca y Nariño (Tabla 4.).

Tabla 4. Distribución geográfica de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1.

<i>Departamento</i>	<i>Cauca</i>	<i>Chocó</i>	<i>Nariño</i>	<i>Valle</i>	<i>Otros</i>
<i>Genotipo</i>					
<i>G1</i>	3	2	6	9	1
<i>G1/G2</i>	5	0	5	4	0
<i>G2</i>	3	0	0	0	0

En este estudio, el departamento del Cauca fue el único en presentar pacientes con el genotipo de riesgo G2 en homocigosis, estos se localizaron en los municipios de Puerto tejada y Santander de Quilichao. El municipio con mayor frecuencia de genotipos de riesgo fue Buenaventura, localizado en el departamento del Valle del Cauca, donde se presentaron 8 casos de pacientes homocigotos para el genotipo de riesgo G1 y un caso G1/G2 (Tabla 5)

Tabla 5. Distribución geográfica por municipio de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1

<i>Departamento</i>	<i>Municipio</i>	<i>G1</i>	<i>G1/G2</i>	<i>G2</i>
<i>Cauca</i>	Buenos Aires	2	2	
	Lopez de Micay		1	
	Puerto Tejada			2
	Santander de Quilichao	1		1
	Suarez		1	
	Villa Rica		1	
<i>Chocó</i>	Bajo Baudó	2		
<i>Nariño</i>	El Charco		1	
	Magüi Payán	1		
	Olaya Herrera	1		
	Tumaco	3	4	
<i>Valle</i>	Buenaventura	8	1	
	Dagua		2	
	Florida	1		
	Jamundí		1	

	Tuluá	1
Otros	ND	1

5.1.3. Hallazgos incidentales

La secuenciación Sanger del exón 7 del gen APOL1 evidenció algunas variantes cuya patogenicidad se desconoce hasta este momento, razón por la cual se clasifican como variantes de significado incierto de acuerdo con las recomendaciones del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG) (Richards et al., 2015)(Tabla 6).

Tabla 6. Variantes incidentales

<i>Referencia SNP</i>	<i>Código HGVS</i>	<i>Cambio/ proteína</i>	<i>Clasificación</i>	<i>N° Pacientes</i>	<i>Predicción funcional</i>		
					<i>Sift</i>	<i>Provean</i>	<i>PolyPhen2</i>
<i>rs139590386</i>	c.976A>G	p.I326V	<i>Missense</i>	2	Tolerada	Neutral	Benigna
<i>rs16996616</i>	c.1057G>A	p. D353N	<i>Missense</i>	13	Tolerada	Neutral	Benigna
<i>rs143845266</i>	c.1106T>A	p.V369E	<i>Missense</i>	1	Dañina	Dañina	Dañina

Se procedió a realizar un estudio in silico para determinar la patogenicidad de todas las variantes de significado incierto encontradas. Se emplearon los softwares SIFT, Provean y Polyphen 2, los cuales reportaron patogenicidad (ver figura 1).

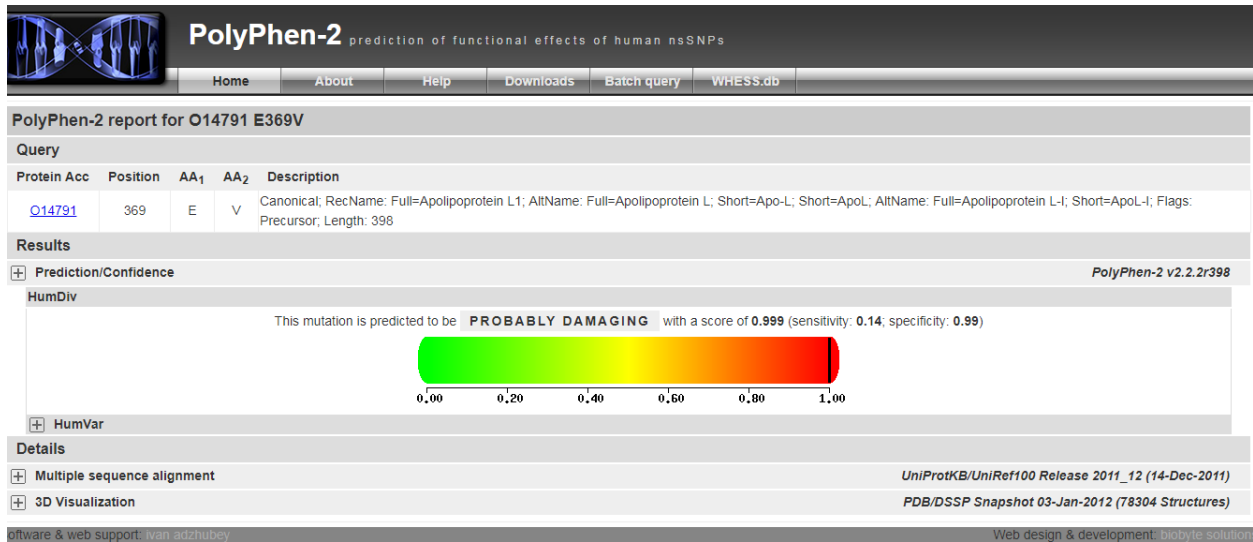


Figura 1. Predicción bioinformática de la variante p.V369 por Polyphen 2.

6. Discusión

Frecuencias alélicas del gen APOL1

De la población evaluada sólo el 33% es homocigoto para el genotipo nativo G0 (ver figura 2.). Este porcentaje es comparable con los resultados obtenidos en el África subsahariana, en poblaciones específicas de países como Nigeria y Ghana donde se reporta una prevalencia aproximada de 36% y 47% respectivamente (Thomson et al., 2014) donde la baja prevalencia del genotipo G0 se puede explicar por la presión selectiva que generó la tripanosomiasis humana en el oeste del continente africano (Cooper et al., 2017).

En nuestro estudio, el mayor número de pacientes con el genotipo G0/G0 se concentró en la ciudad de Cali (Valle del Cauca), lo cual se podría relacionar con un bajo porcentaje de ancestría africana en esta población. Sin embargo, debido al fenómeno de migración masiva desde otros municipios con mayor prevalencia de genotipos de riesgo, es de esperarse que en algunos años disminuya la población sin alelos de riesgo del gen APOL1.

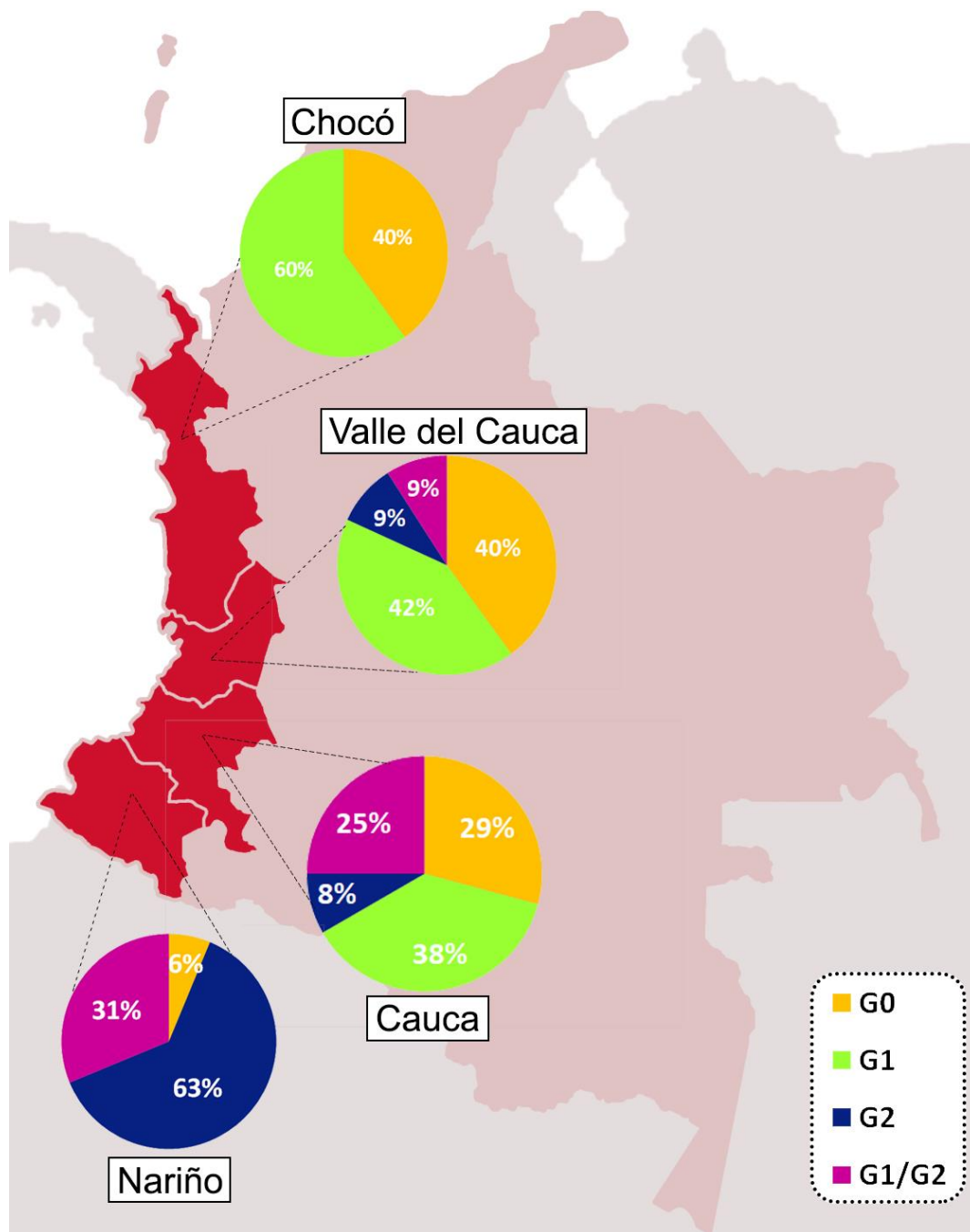


Figura 2. Distribución geográfica de los genotipos del gen APOL1.

El genotipo de riesgo G1 se identificó en el 59% de los pacientes, es decir, con una prevalencia estimada de 6 de cada 10 participantes del estudio, lo cual se correlaciona con otros estudios donde se reporta este genotipo como el de mayor frecuencia, alcanzando hasta el 49% en las tribus Ibo

(Thomson et al., 2014) y Esan (1000 Genomes Project Consortium et al., 2012) de Nigeria. A pesar de lo anterior, es importante resaltar que el presente estudio se llevó a cabo en población con diagnóstico de ERC, mientras las referencias mencionadas realizaron análisis poblacionales.

Las frecuencias del genotipo de riesgo G2 fueron más bajas en nuestra población, identificando que aproximadamente el 10% de los participantes posee este alelo, el cual proporciona una ventaja heterocigótica de protección dominante contra la infección por *T. rhodesiense*, corroborando el componente genético presente en nuestra población que proviene de la ancestría africana (Cooper et al., 2017).

Finalmente, si bien la ERC originada por los genotipos de riesgo del gen APOL1 se ha relacionado con un patrón de herencia autosómica recesiva y por tanto tendrían que estar ambos alelos afectados para manifestar la enfermedad (Dummer et al., 2015), el análisis de las frecuencias poblacionales de estos genotipos permite establecer su prevalencia en nuestro país y con ello generar un panorama global del riesgo potencial de desarrollar ERC en las regiones geográficas abarcadas con el estudio.

Frecuencias de los genotipos de riesgo G1 y G2 del gen APOL1

Desde el punto de vista genotípico, el 26,47% de los pacientes fueron homocigotos: el 20,59% para G1 y el 5,88% para G2, mientras que el 13,73% presentaron heterocigosidad G1/G2. Estos datos tienen el mismo comportamiento que los registrados por Kopp et al 2011, donde se determinaron los genotipos de APOL1 para 271 casos de afroamericanos. En esta publicación, aproximadamente el 54% de los pacientes fueron evaluados como homocigotos para G1, mientras que cerca del 25% de los pacientes se evaluaron con el genotipo G2 (Kopp et al., 2011). Dado lo anterior, se infiere que el comportamiento mutacional de la población colombiana analizada podría deberse al flujo génico africano presente en nuestra ancestría.

El genotipo G2 fue el menos frecuente, y en estado homocigoto únicamente se encontró en tres pacientes que provenían del departamento del Cauca: dos de Puerto Tejada y uno de Santander de

Quilichao (Ver anexo 1). Este fenómeno podría estar relacionado con los orígenes históricos del municipio de Puerto Tejada, el cual fue fundado principalmente por negros cimarrones provenientes de los ríos Palo, Paila y Guengüe (Montaño, 2008), por lo tanto, esta población podría tener un efecto fundador de estas mutaciones en el suroccidente colombiano.

Aunque la mayoría de pacientes participantes del estudio provenían del departamento del Valle del Cauca, el municipio de Buenaventura concentra la mayoría de los casos con genotipos de riesgo en estado homocigoto o heterocigoto compuesto (24%), llama la atención que en la ciudad de Cali capital del mismo departamento, donde se registró un total de 19 participantes, no se presentaron casos de pacientes con más de un alelo de riesgo. Lo anterior se relaciona directamente con los altos índices de endogamia registrados en algunos municipios de nuestro país, principalmente Buenaventura (Guauque-Olarte, Sandra; Fuentes-Pardo, Ángela Patricia; Cárdenas-Henao, Héiber; Barreto, 2010), que facilita la transferencia de estas mutaciones a las nuevas generaciones.

No se encontraron genotipos de riesgo en estado homocigoto agrupados en el mismo paciente, lo cual se debe al desequilibrio negativo de ligamiento que existe entre los alelos de riesgo G1 y G2, razón por la cual nunca aparecen juntos en el mismo cromosoma. Adicionalmente, en los estudios realizados hasta ahora no se ha observado un evento de recombinación entre las variantes G1 y G2 físicamente proximales que los unirían en el mismo cromosoma (Genovese et al., 2010; Kopp et al., 2011)

Hallazgos incidentales

Uno de los participantes del estudio no presentó los genotipos de riesgo descritos para el gen APOL1, sin embargo, evidenció la variante p.V369E en estado heterocigoto, clasificada como variante de significado incierto. El codón que codifica para el aminoácido Valina GUG cambia por el codón GAG que codifica para el aminoácido Ácido Glutámico, generando un cambio en la proteína que afecta específicamente el dominio de interacción con SRA. Teniendo en cuenta que la Valina es un aminoácido hidrofóbico, mientras que el ácido glutámico tiene una carga negativa

que permite interactuar con aminoácidos cargados positivamente, esta variante podría repercutir en el adecuado plegamiento y truncar las interacciones proteína-proteína.

Sería interesante definir si esta variante, que de acuerdo a las predicciones realizadas con softwares bioinformáticos representa un cambio nocivo para la proteína, podría estar relacionada con el fenotipo del paciente, ya que se ha reportado en pacientes pediátricos con síndrome nefrótico (Feltran et al., 2017). Adicionalmente, es necesario determinar si esta variante contribuye al fenotipo de ERC cuando se encuentra acompañando a los genotipos de riesgo reportados. Se sugiere revisar la funcionalidad de la proteína in vitro a nivel celular para validar la patogenicidad de la variante.

7. Conclusiones

- Este trabajo es el primer estudio en Colombia que analiza genotipos de riesgo del gen APOL1 en una muestra de población que se reconoce como afrocolombiana con diagnóstico clínico de Enfermedad Renal Crónica provenientes del pacífico colombiano.
- El 38% de los pacientes incluidos en este estudio presentó dos alelos de riesgo del gen APOL1, lo cual podría relacionarse con el desarrollo de ERC. Sin embargo, la distribución geográfica de estos alelos es mucho más amplia, ya que el 67% de la población estudiada presentó por lo menos un alelo de riesgo.
- Es necesario hacer estudios poblacionales en los departamentos estudiados, ya que los genotipos de riesgo del gen APOL1 se encuentran ampliamente distribuidos en estas regiones y probablemente resulten siendo un problema de salud pública en las zonas con altos índices de endogamia, que generalmente, corresponden a zonas rurales apartadas de las ciudades principales.
- Se encontró una nueva variante en el gen APOL1 (p.V369E) que podría estar relacionada con daño renal, por lo tanto, es importante realizar estudios adicionales que permitan validar el efecto funcional de esta variante.

Limitaciones

El estudio se realizó con pacientes que se autorreconocieron como afrocolombianos, lo cual podría sesgar la investigación. Para conocer la distribución poblacional real de los alelos de riesgo del gen APOL1 deberá realizarse la genotipificación en una muestra representativa de la población del pacífico colombiano.

Recomendaciones

Es necesario implementar políticas públicas que incentiven el uso de tecnologías genómicas rápidas para la identificación de los portadores de más de un alelo de riesgo en poblaciones afrocolombianas o susceptibles a falla renal.

8. Bibliografía

- 1000 Genomes Project Consortium, T. 1000 G. P., Abecasis, G. R., Auton, A., Brooks, L. D., DePristo, M. A., Durbin, R. M., ... McVean, G. A. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, *491*(7422), 56–65.
<https://doi.org/10.1038/nature11632>
- Alexander, A. L., Lee, J. E., Lazar, M., & Field, A. S. (2007). Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics : The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, *4*(3), 316–329. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2007.05.011>
- Bai, Z., Ma, X., Tian, J., Dong, J., He, J., Zhan, W., ... Jiang, G. (2016). Brain microstructural abnormalities are related to physiological alterations in end-stage renal disease. *PLoS ONE*, *11*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155902>
- Beckerman, P., Bi-Karchin, J., Park, A. S., Qiu, C., Dummer, P. D., Soomro, I., ... Susztak, K. (2017). Transgenic expression of human APOL1 risk variants in podocytes induces kidney disease in mice. *Nat Med*, *23*(4), 429–438. <https://doi.org/10.1038/nm.4287>
- Borst, S. E. (2004). The role of TNF- α in insulin resistance. *Endocrine*.
<https://doi.org/10.1385/ENDO:23:2-3:177>
- Callender, C. O., Cherikh, W. S., Traverso, P., Hernandez, A., Oyetunji, T., & Chang, D. (2009). Effect of donor ethnicity on kidney survival in different recipient pairs: an analysis of the OPTN/UNOS database. *Transplant Proc*, *41*(10), 4125–4130.
<https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.06.182>
- Cooper, A., Ilboudo, H., Alibu, V. P., Ravel, S., Enyaru, J., Weir, W., ... MacLeod, A. (2017). APOL1 renal risk variants have contrasting resistance and susceptibility associations with African trypanosomiasis. *eLife*, *6*. <https://doi.org/10.7554/eLife.25461>
- Coppens, I., Levade, T., & Courtoy, P. J. (1995). Host plasma low density lipoprotein particles as an essential source of lipids for the bloodstream forms of *Trypanosoma brucei*. *Journal of Biological Chemistry*, *270*(11), 5736–5741. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.11.5736>
- Dummer, P. D., Limou, S., Rosenberg, A. Z., Heymann, J., Nelson, G., Winkler, C. A., & Kopp, J. B. (2015). APOL1 Kidney Disease Risk Variants: An Evolving Landscape. *Seminars in Nephrology*. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2015.04.008>

- Esposito, K., Nappo, F., Marfella, R., Giugliano, G., Giugliano, F., Ciotola, M., ... Giugliano, D. (2002). Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*, *106*(16), 2067–2072. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12379575>
- Feltran, L. S., Varela, P., Silva, E. D., Veronez, C. L., Franco, M. C., Filho, A. P., ... Pesquero, J. B. (2017). Targeted Next-Generation Sequencing in Brazilian Children with Nephrotic Syndrome Submitted to Renal Transplant. *Transplantation*, *101*(12). <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001846>
- Foster, M. C., Coresh, J., Fornage, M., Astor, B. C., Grams, M., Franceschini, N., ... Kao, W. H. L. (2013). APOL1 Variants Associate with Increased Risk of CKD among African Americans. *Journal of the American Society of Nephrology*, *24*(9), 1484–1491. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013010113>
- Freedman, B. I., Pastan, S. O., Israni, A. K., Schladt, D., Julian, B. A., Gautreaux, M. D., ... Divers, J. (2016). APOL1 genotype and kidney transplantation outcomes from deceased african American donors. *Transplantation*, *100*(1), 194–202. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000969>
- Friedman, D. J., Kozlitina, J., Genovese, G., Jog, P., & Pollak, M. R. (2011). Population-Based Risk Assessment of APOL1 on Renal Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, *22*(11), 2098–2105. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011050519>
- Galons, J. P., Trouard, T., Gmitro, A. F., & Lien, Y. H. H. (1996). Hemodialysis increases apparent diffusion coefficient of brain water in nephrectomized rats measured by isotropic diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Journal of Clinical Investigation*, *98*(3), 750–755. <https://doi.org/10.1172/JCI118847>
- Genovese, G., Friedman, D. J., Ross, M. D., Lecordier, L., Uzureau, P., Freedman, B. I., ... Pollak, M. R. (2010). Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science*, *329*(5993), 841–845. <https://doi.org/10.1126/science.1193032>
- Guauque-Olarte, Sandra; Fuentes-Pardo, Ángela Patricia; Cárdenas-Henao, Héiber; Barreto, G. (2010). DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRESPROBACIONES AFRODESCENDIENTES DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO A PARTIR DE 8 STR'S. *Acta Biológica Colombiana*, *15*(2), 47–60. Retrieved from

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319027885004>

- Heymann, J., Winkler, C. A., Hoek, M., Susztak, K., & Kopp, J. B. (2017). Therapeutics for APOL1 nephropathies: putting out the fire in the podocyte. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw402>
- Huang, J., & Klionsky, D. J. (2007). Autophagy and human disease. *Cell Cycle*, 6(15), 1837–1849. <https://doi.org/10.4161/cc.6.15.4511>
- Ito, K., Bick, A. G., Flannick, J., Friedman, D. J., Genovese, G., Parfenov, M. G., ... Seidman, C. (2014). Increased burden of cardiovascular disease in carriers of APOL1 genetic variants. *Circulation Research*, 114(5), 845–850. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302347>
- Kasembeli, A. N., Duarte, R., Ramsay, M., Mosiane, P., Dickens, C., Dix-Peek, T., ... Naicker, S. (2015). APOL1 Risk Variants Are Strongly Associated with HIV-Associated Nephropathy in Black South Africans. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(11), 2882–2890. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014050469>
- Kazancıoğlu, R. (2013). Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Kidney Int Suppl* (2011), 3(4), 368–371. <https://doi.org/10.1038/kisup.2013.79>
- Kimuda, M. P., Noyes, H., Mulindwa, J., Enyaru, J., Alibu, V. P., Sidibe, I., ... Consortium, T. R. G. as members of T. H. (2018). No evidence for association between APOL1 kidney disease risk alleles and Human African Trypanosomiasis in two Ugandan populations. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(2), e0006300. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006300>
- Kopp, J. B., Nelson, G. W., Sampath, K., Johnson, R. C., Genovese, G., An, P., ... Winkler, C. A. (2011). APOL1 Genetic Variants in Focal Segmental Glomerulosclerosis and HIV-Associated Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(11), 2129–2137. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011040388>
- Koshikawa, M., Mukoyama, M., Mori, K., Suganami, T., Sawai, K., Yoshioka, T., ... Nakao, K. (2005). Role of p38 mitogen-activated protein kinase activation in podocyte injury and proteinuria in experimental nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 16(9), 2690–2701. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004121084>

- Lan, X., Wen, H., Lederman, R., Malhotra, A., Mikulak, J., Popik, W., ... Singhal, P. C. (2015). Protein domains of APOL1 and its risk variants. *Exp Mol Pathol*, 99(1), 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.06.003>
- Leopold, J. A. (2011). Aldosterone, mineralocorticoid receptor activation, and cardiovascular remodeling. *Circulation*, 124(18), e466-8. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.067918>
- Lim, A. K. . (2014). Diabetic nephropathy - complications and treatment. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 7, 361–381. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S40172>
- Limou, S., Nelson, G. W., Kopp, J. B., & Winkler, C. A. (2014). APOL1 Kidney Risk Alleles: Population Genetics and Disease Associations. *Advances in Chronic Kidney Disease*. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.06.005>
- Limou, S., Nelson, G. W., Lecordier, L., An, P., O’Huigin, C. S., David, V. A., ... Winkler, C. A. (2015). Sequencing rare and common APOL1 coding variants to determine kidney disease risk. In *Kidney International* (Vol. 88, pp. 754–763). <https://doi.org/10.1038/ki.2015.151>
- Ma, F. Y., Liu, J., & Nikolic-Paterson, D. J. (2009). The role of stress-activated protein kinase signaling in renal pathophysiology. In *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (Vol. 42, pp. 29–37). <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2008005000049>
- Matsushita, K., van der Velde, M., Astor, B. C., Woodward, M., Levey, A. S., de Jong, P. E., ... Consortium, C. K. D. P. (2010). Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*, 375(9731), 2073–2081. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60674-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60674-5)
- Mazumder, M. K., Giri, A., Kumar, S., & Borah, A. (2016). A highly reproducible mice model of chronic kidney disease: Evidences of behavioural abnormalities and blood-brain barrier disruption. *Life Sciences*, 161, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.07.020>
- Monhart, V. (2013). Hypertension and chronic kidney diseases. *Cor et Vasa*, 55(4), e397–e402. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.crvasa.2013.07.006>
- Montaño, E. (2008). Plan de desarrollo municipal - Puerto Tejada 2008-2011. *Alcaldia Municipal*.

- Nawale, R. B., Mourya, V. K., & Bhise, S. B. (2006). Non-enzymatic glycation of proteins: a cause for complications in diabetes. *Indian J Biochem Biophys*, *43*(6), 337–344. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17285797>
- Nichols, B., Jog, P., Lee, J. H., Blackler, D., Wilmot, M., D’agati, V., ... Friedman, D. J. (2015). Innate immunity pathways regulate the nephropathy gene Apolipoprotein L1. *Kidney International*, *87*(2), 332–342. <https://doi.org/10.1038/ki.2014.270>
- Olabisi, O. A., Zhang, J.-Y., VerPlank, L., Zahler, N., DiBartolo, S., Heneghan, J. F., ... Pollak, M. R. (2016). APOL1 kidney disease risk variants cause cytotoxicity by depleting cellular potassium and inducing stress-activated protein kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(4), 830–837. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522913113>
- Parham, W. A., Mehdirad, A. A., Biermann, K. M., & Fredman, C. S. (2006). Hyperkalemia revisited. *Tex Heart Inst J*, *33*(1), 40–47. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16572868>
- Pays, E., Vanhollebeke, B., Uzureau, P., Lecordier, L., & Pérez-Morga, D. (2014). The molecular arms race between African trypanosomes and humans. *Nat Rev Microbiol*, *12*(8), 575–584. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3298>
- Pérez-Morga, D., Vanhollebeke, B., Paturiaux-Hanocq, F., Nolan, D. P., Lins, L., Homblé, F., ... Pays, E. (2005). Apolipoprotein L-I promotes trypanosome lysis by forming pores in lysosomal membranes. *Science*, *309*(5733), 469–472. <https://doi.org/10.1126/science.1114566>
- Reiner, A. P., & Susztak, K. (2016). APOL1 Variants: From Parasites to Kidney Function to Cardiovascular Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *36*(2), 219–220. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.306794>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., ... Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*, *17*(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Rojas, Ernesto; Fernandez, Pedro José; Gallo Mejía, Hatsblade; Serna Rios, Carmela; Poveda, M. (2007). Colombia una nación multicultural. Su diversidad étnica. *DEPARTAMENTO*

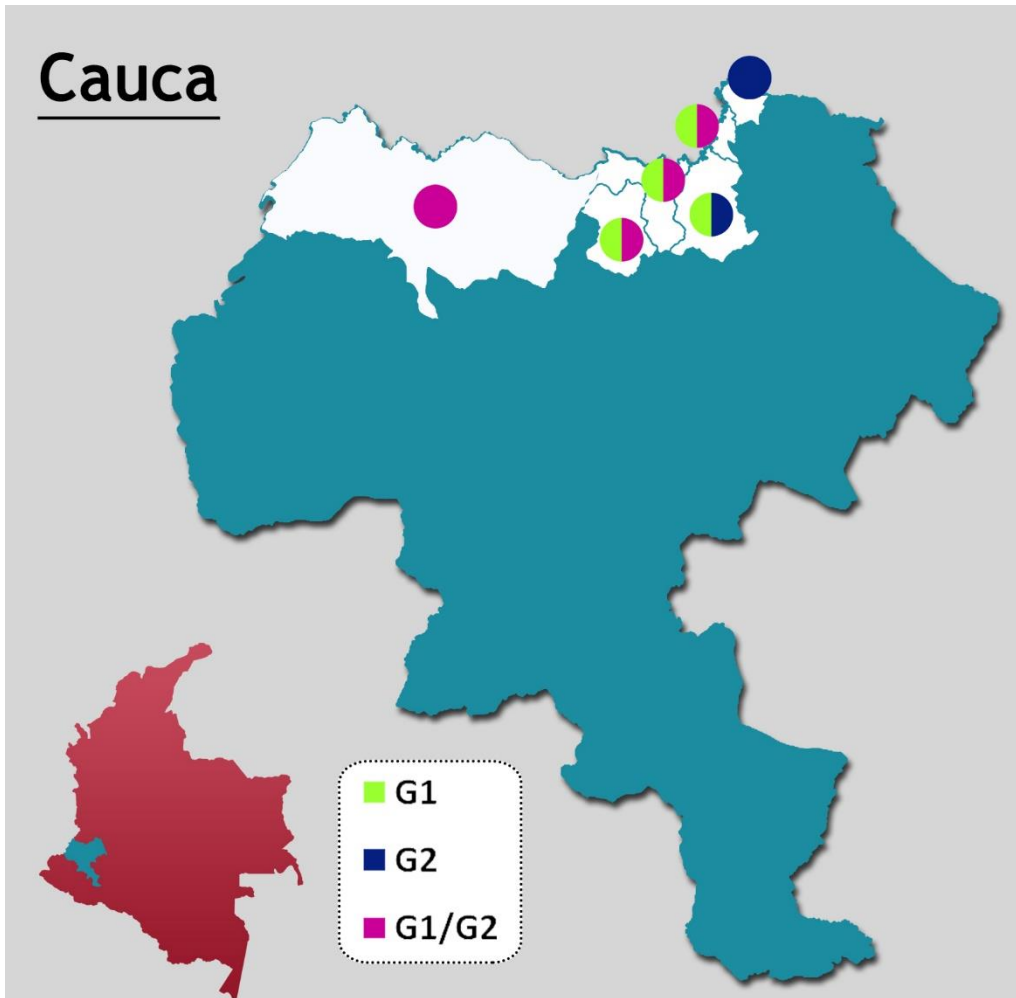
- ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA*. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/censo2005/etnia/sys/colombia_nacion.pdf
- Sana, T. R., Janatpour, M. J., Sathe, M., McEvoy, L. M., & McClanahan, T. K. (2005). Microarray analysis of primary endothelial cells challenged with different inflammatory and immune cytokines. *Cytokine*, *29*(6), 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.11.003>
- Thomas, R., Kanso, A., & Sedor, J. R. (2008). Chronic kidney disease and its complications. *Prim Care*, *35*(2), 329–44, vii. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2008.01.008>
- Thomson, R., Genovese, G., Canon, C., Kovacsics, D., Higgins, M. K., Carrington, M., ... Raper, J. (2014). Evolution of the primate trypanolytic factor APOL1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(20), E2130–E2139. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400699111>
- Tomey, M. I., & Winston, J. A. (2014). Cardiovascular pathophysiology in chronic kidney disease: opportunities to transition from disease to health. *Ann Glob Health*, *80*(1), 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.aogh.2013.12.007>
- Toyoda, K. (2015). Cerebral Small Vessel Disease and Chronic Kidney Disease. *Journal of Stroke*, *17*(1), 31. <https://doi.org/10.5853/jos.2015.17.1.31>
- Toyoda, K., & Ninomiya, T. (2014). Stroke and cerebrovascular diseases in patients with chronic kidney disease. *The Lancet Neurology*. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70026-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70026-2)
- Tzur, S., Rosset, S., Shemer, R., Yudkovsky, G., Selig, S., Tarekegn, A., ... Skorecki, K. (2010). Missense mutations in the APOL1 gene are highly associated with end stage kidney disease risk previously attributed to the MYH9 gene. *Hum Genet*, *128*(3), 345–350. <https://doi.org/10.1007/s00439-010-0861-0>
- Uzureau, S., Coquerelle, C., Vermeiren, C., Uzureau, P., Van Acker, A., Pilotte, L., ... Pays, E. (2016). Apolipoproteins L control cell death triggered by TLR3/TRIF signaling in dendritic cells. *Eur J Immunol*, *46*(8), 1854–1866. <https://doi.org/10.1002/eji.201546252>
- van der Putten, K., Braam, B., Jie, K. E., & Gaillard, C. A. (2008). Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol*, *4*(1), 47–57. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0655>
- Vanhollebeke, B., & Pays, E. (2006). The function of apolipoproteins L. *Cell Mol Life Sci*, *63*(17), 1937–1944. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6091-x>

- Vanhollebeke, B., Truc, P., Poelvoorde, P., Pays, A., Joshi, P. P., Katti, R., ... Pays, E. (2006). Human Trypanosoma evansi infection linked to a lack of apolipoprotein L-I. *N Engl J Med*, 355(26), 2752–2756. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa063265>
- Wan, G., Zhaorigetu, S., Liu, Z., Kaini, R., Jiang, Z., & Hu, C. A. (2008). Apolipoprotein L1, a novel Bcl-2 homology domain 3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. *J Biol Chem*, 283(31), 21540–21549. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800214200>
- Willette, R. N., Eybye, M. E., Olzinski, A. R., Behm, D. J., Aiyar, N., Maniscalco, K., ... Doe, C. P. (2009). Differential effects of p38 mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase 2 inhibitors in a model of cardiovascular disease. *J Pharmacol Exp Ther*, 330(3), 964–970. <https://doi.org/jpet.109.154443> [pii]\r10.1124/jpet.109.154443
- Zhaorigetu, S., Wan, G., Kaini, R., Jiang, Z., & Hu, C. A. (2008). ApoL1, a BH3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. *Autophagy*, 4(8), 1079–1082. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18927493>

9. Anexos

Anexo 1. Distribución de los genotipos de riesgo del gen APOL1 por municipio

Cauca

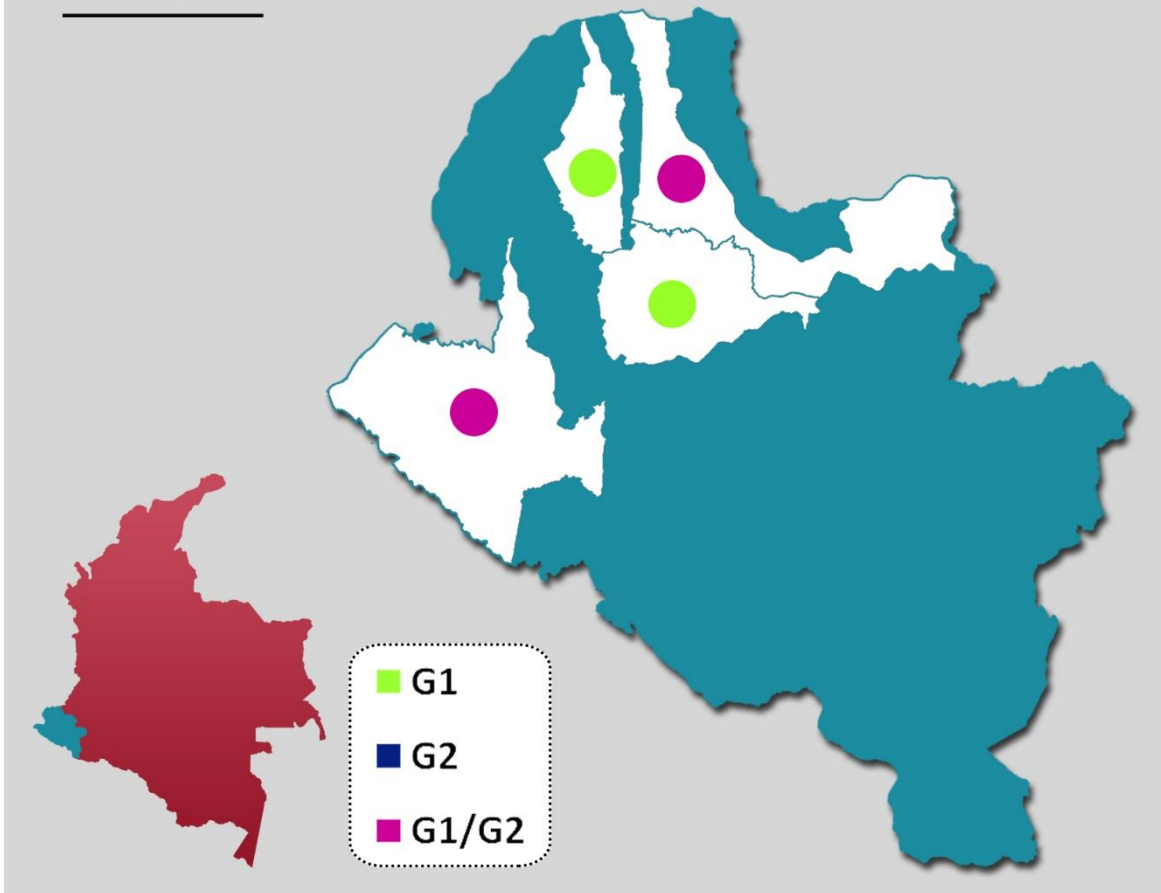


Chocó

- G1
- G2
- G1/G2



Nariño



Valle del Cauca

