



FORMACION CONTINUADA

*Polimorfismos génicos en la patología cardiovascular**

F. Rodríguez Esparragón, J. C. Rodríguez Pérez, A. Anabitarte, A. Losada y O. Avalos

Unidad de Investigación-Servicio de Nefrología. Hospital Ntra. Sra. del Pino.

INTRODUCCION

Los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) tienen un elevado y documentado riesgo para las complicaciones arterioscleróticas, siendo la enfermedad cardiovascular la causa más importante de mortalidad en aquellos pacientes con IRC que siguen tratamiento sustitutivo¹. Los eventos coronarios son aproximadamente 5 a 50 veces más elevados que en la población general. Muchos de los estudios publicados hasta ahora han analizado factores de riesgo conocidos como la hipertensión arterial, hiperlipidemia, tabaquismo, diabetes, etc., tratando de asignar un importante papel patogénico y si fuera posible único al generador de esta patología coronaria. Sin embargo, todavía es motivo de discusión sí, como y cuanto las lipoproteínas, por ejemplo o los desórdenes de la fibrinólisis contribuyen a la excesiva morbilidad y mortalidad de estos pacientes². Sólo recientemente, los autores se han venido a centrar en los factores genéticos, buscando una asociación con el desarrollo de esta enfermedad.

Diferentes estudios han venido presentando datos sobre el papel de los diferentes polimorfismos génicos en el sistema renina-angiotensina y en otros, el desarrollo de miocardiopatía hipertrófica, hipertrofia ventricular izquierda, cardiopatía isquémica, y como no, de nefropatía diabética y otras enfermedades renales no diabéticas³⁻⁵. Nuestro propósito es presentar de forma sucinta nuevas estrategias de estudio, actualmente al alcance del clínico y que pueden ser

de ayuda en un mejor entendimiento del complejo proceso arteriosclerótico que afecta a nuestros pacientes.

En un determinado gen, el número de mutaciones que se han identificado varía, y su caracterización molecular es importante porque en ocasiones ocurre que la progresión de la enfermedad es diferente, en función de la anormalidad que se presente.

Existe, sin embargo, una importante contribución poligénica en este tipo de enfermedades, aunque la mayor participación de múltiples genes se presenta, con diferencia, en la cardiopatía isquémica y, por tanto, en el proceso de formación de la placa de ateroma y en la trombogénesis.

En enfermedades complejas, en las que intervienen múltiples genes, son posibles distintas aproximaciones para determinar cuál es la contribución de un determinado gen en la enfermedad. El acercamiento más general a los genes involucrados, se realiza a través de los factores de riesgo clásicos conocidos, es decir, en la formación de la placa de ateroma: la HTA, las alteraciones lipoproteicas, la diabetes, la obesidad, o bien el estudio de aquellos genes que se sabe poseen una participación directa en el mantenimiento de la integridad de la placa como son, entre otros, el factor transformante del crecimiento β 1 (TGF- β 1), interleucina 1 (IL1). En la trombosis: las concentraciones de lipoproteína (a), las vías fibrinolíticas, los factores V y VII de la cascada de la coagulación o las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno.

Correspondencia: Dr. José Carlos Rodríguez Pérez.
Unidad de Investigación-Servicio de Nefrología.
Hospital Ntra. Sra. del Pino.
35005 Las Palmas de Gran Canaria.

* Este trabajo ha sido desarrollado dentro de los Proyectos FIS 96/0662. Beca Fundación Mapfre-Guanarteme. Beca Ilmo. Colegio Oficial de Médicos de Las Palmas.

GENES DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

La contribución génica asociada a cada uno de los factores de riesgo descritos es a su vez múltiple, pero conocemos los genes que están implicados en su regulación. En sentido estricto, denominamos polimorfismos génicos a aquellas variaciones en la se-

cuencia del DNA que caracterizan a un determinado genoma y que se presenta en una frecuencia en homocigosis de al menos un 1% en la población. Esta limitación deriva de la necesidad de que un polimorfismo sea lo suficientemente informativo para su utilidad en análisis genéticos complejos.

La participación de los genes de la cascada del sistema renina-angiotensina-aldosterona y de los distintos transportadores iónicos resulta esencial en el mantenimiento de la presión arterial⁶⁻⁸. La mayoría de los estudios se centran en determinar la influencia que determinados polimorfismos génicos tienen entre la población afecta a través de estudios casos-contrroles.

El papel patogénico asociado a la HTA deriva del hecho de que las alteraciones hemodinámicas locales constituyen una de las causas que originan la alteración funcional del endotelio, a la que denominamos «disfunción endotelial». Estas alteraciones endoteliales producen la ruptura del equilibrio entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, y aumentan la permeabilidad del endotelio.

El sistema renina-angiotensina no sólo es responsable de modular el tono vascular sino que actúa en procesos de crecimiento celular y, por tanto, puede intervenir en la fisiopatología hipertensiva y en las complicaciones cardiovasculares y renales^{6,7,9,10}.

Se han caracterizado en el hombre algunos polimorfismos génicos en el gen de la renina, sin embargo, la mayoría de ellos carece de interés. Se han creado modelos de animales transgénicos que poseen un gen adicional de renina y desarrollan hipertensión arterial fulminante [TGR (mRen2)-27], dependiente de la edad y de la ingesta de sodio¹¹. Su interés radica en que es el modelo de hipertensión arterial que más se parece a la hipertensión arterial esencial. No se produce además un aumento en las concentraciones de renina circulante, sino que su expresión es tisular, fundamentalmente en las cápsulas suprarrenales y en el timo^{6,11}.

El gen de la renina posee 10 exones y 9 intrones, mientras que el gen del angiotensinógeno (AGT) posee únicamente 5 exones y 4 intrones⁶. A pesar de ello, presenta numerosos polimorfismos de interés. En 1992, Jeunemaitre y col. establecieron, mediante análisis de ligamiento en parejas de hermanos afectos, la relación existente entre el locus génico del gen AGT y la HTA. Estudiaron dos poblaciones diferentes, familias en Francia (París) y en EEUU (Utah) y utilizaron criterios de inclusión rigurosos de los sujetos hipertensos¹². Recientemente, utilizando un mayor número de familias, un estudio europeo multicéntrico no ha conseguido establecer como cierto el ligamiento génico¹³. Sin embargo,

Jeunemaitre y col., caracterizaron 15 variantes moleculares en el gen AGT, entre ellas, las variantes M235T y T174M que se correlacionan con mayores concentraciones plasmáticas de angiotensinógeno y con HTA^{12,14}.

El polimorfismo M235T ha sido y continúa siendo intensamente estudiado. Se trata de un polimorfismo de sustitución de los nucleótidos T704C en el exón 2 del gen, lo que produce el cambio de metionina por treonina en el aminoácido 235 de la molécula de AGT^{7,8,15-18}. La asociación entre las variantes moleculares M235T y T174M y la HTA esencial no siempre se pone de manifiesto y depende en gran medida de la población estudiada. Recientemente, se han caracterizado nuevas variantes génicas que afectan a la región proximal del promotor del gen AGT^{19,20}. De las nuevas variantes descritas dos parecen de especial interés. Se trata de polimorfismos de sustitución denominados A(-6)G y A(-20)C que se traducen en estudios *in vitro*, en una mayor afinidad del promotor mutado por factores nucleares, comprobándose además que existe una mayor tasa de transcripción del gen¹⁹. En algunos procesos se ha podido comprobar la cosegregación entre la variante homocigótica TT del polimorfismo M235T y la mutación AA del polimorfismo A(-6)G (fig. 1), con lo cual se ha planteado que el polimorfismo M235T constituye un marcador de ésta o de otras variantes funcionales que afectan a la región proximal del promotor^{17,19,20}.

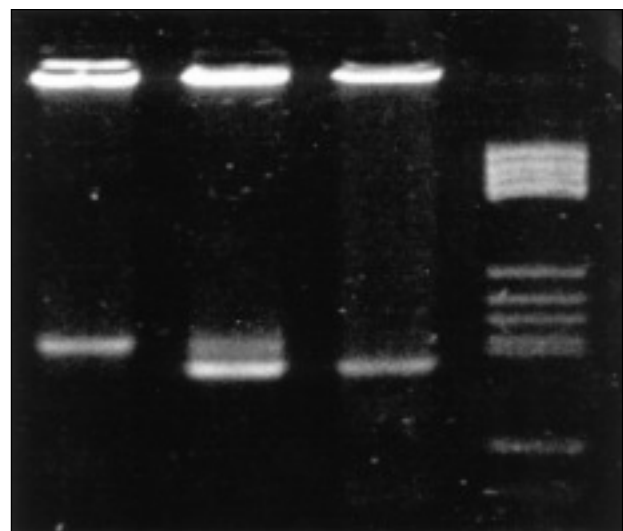


Fig. 1.—Determinación MS-PCR del polimorfismo A(-6)G de la región proximal del promotor AGT (angiotensinógeno). Corresponde a una serie de muestras de sujetos controles analizados. De izquierda a derecha homocigoto GG, heterocigoto AG, homocigoto AA y marcador.

El gen de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), se encuentra localizado en el cromosoma 17, y posee un polimorfismo de inserción (I)/delección (D) en el intrón 16. A pesar de estar localizado en un intrón, los individuos con genotipo DD poseen niveles plasmáticos claramente elevados de ECA. Existe una gradación en las concentraciones, de forma que los heterocigóticos poseen concentraciones de ECA intermedias y los homocigóticos II poseen las menores concentraciones (modelo de herencia codominante). La asociación entre estos valores aumentados y el riesgo cardiovascular también ha sido puesta de manifiesto^{8,21}. La enzima convertidora de la angiotensina constituye el nexo de unión de tres sistemas vasoactivos distintos: angiotensina II, óxido nítrico y bradiquinina. La contribución de los sistemas renina-angiotensina locales tanto en la enfermedad vascular como en la renal, es analizada cada vez con mayor interés¹⁰. Las concentraciones aumentadas de angiotensina II poseen un papel fundamental en la génesis de la placa de ateroma, puesto que se conoce su acción activadora de protooncogenes de respuesta temprana, su acción inductora sobre la liberación de endotelina-1 por las células endoteliales y su capacidad de disminuir la muerte celular programada²².

Existe numerosa literatura referente a la importancia que posee el polimorfismo homocigótico DD, tanto en la hipertrofia ventricular izquierda como asociado al riesgo de cardiopatía isquémica e infarto de miocardio^{8,14,23-27}. La importancia del polimorfismo I/D del gen de la ECA se extiende también a la patología renal. Se ha podido comprobar la asociación del genotipo DD como valor predictor de progresión de la nefropatía diabética, así como de una peor evolución en la nefropatía IgA y una respuesta variable a los inhibidores de la ECA²⁸⁻³².

El receptor AT1 de la angiotensina II es también polimórfico. De entre los polimorfismos caracterizados, el polimorfismo de sustitución A1166C resulta de especial importancia, ya que se ha encontrado en una acción sinérgica cuando además se presenta el polimorfismo homocigótico DD del gen de la enzima convertidora^{8,33}.

GENES DE LA CASCADA DE LA COAGULACION

Otros genes cuyos polimorfismos resultan de especial interés en la patología cardiovascular son, entre otros, los implicados en la coagulación, factores V y VII, los genes alfa y especialmente beta-fibrinógeno.

El incremento en la coagulabilidad y una disminución de la capacidad fibrinolítica se han asociado con un riesgo incrementado de enfermedad coronaria. Los

niveles plasmáticos elevados del factor VII y del fibrinógeno se han asociado con un mayor riesgo de enfermedad cardíaca isquémica, tanto en estudios prospectivos como retrospectivos³⁴. Se han caracterizado algunos polimorfismos génicos en el gen del factor VII, entre ellos, un polimorfismo de inserción/delección en la región promotora, un polimorfismo de sustitución en el exón 8 denominado RQ353 y una región hipervariable en el intrón 7, HVR4. No se ha encontrado una asociación entre la frecuencia de los distintos alelos y el riesgo cardiovascular, aunque sí con las concentraciones plasmáticas del factor VII y el polimorfismo RQ353. La mutación RQ353, que se produce por la sustitución G→A, da cuenta de más del 40% de la variación en los niveles del factor VII.

En el gen del factor V se produce también una sustitución G→A en la posición 1691 que produce el cambio Arg₅₀₆→Gln y se asocia con una mayor actividad del factor V y con tendencia a la trombosis, porque aumenta la resistencia frente a la proteína C activada³⁴.

El gen β -fibrinógeno posee al menos 10 polimorfismos distintos. Un polimorfismo de restricción Hae III, a -453pb de la región promotora, explica el 3% de la variabilidad en los niveles circulantes de fibrinógeno, si bien su asociación con la enfermedad coronaria resulta controvertida³⁵. Behague y col., encuentran asociación en pacientes franceses entre el polimorfismo y la enfermedad coronaria. Sin embargo, utilizando un modelo de regresión logística, otro polimorfismo distinto (Bcl I), resulta ser el único con valor predictivo significativo de la severidad de la enfermedad³⁶.

GEN DE LA METILENTETRAHIDROFOLATOREDUCTASA

En los últimos años, el polimorfismo G₆₆₇→T del gen metilentetrahidrofolato reductasa, ha generado un importante número de publicaciones. Los niveles plasmáticos elevados de homocisteína constituyen un factor de riesgo ateroesclerótico conocido. La mutación en el gen cistationín sintetasa (CBS), pero también los defectos en el metabolismo de la vitamina B12, la deficiencia de N(5,10)-metilentetrahidrofolato reductasa o la malabsorción intestinal de vitamina B12 cursan con homocistinuria^{37,38}. En 1995, Frosst y col., sugirieron que el polimorfismo G₆₆₇→T en el gen del enzima metilentetrahidrofolato reductasa constituía un factor de riesgo independiente para la enfermedad coronaria, vascular periférica y recientemente cerebrovascular³⁷. Los individuos homocigóticos y heterocigóticos para la mutación presentan una reducción de la actividad espe-

cífica y un incremento de la termolabilidad del enzima y, aunque existen importantes diferencias étnicas en las frecuencias alélicas, el polimorfismo ha sido asociado con hiperhomocisteinemia por numerosos autores. Sin embargo, los distintos meta-análisis efectuados muestran que, si bien es el factor más determinante de las concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína, no existe asociación con la enfermedad cardiovascular³⁷⁻³⁹.

Las variaciones alélicas estudiadas dan cuenta, en la mayoría de los casos, de un cierto porcentaje de variación en las concentraciones plasmáticas de cada uno de los productos génicos pero no de toda. Por tanto, a través de los distintos estudios se pone de manifiesto la relación estadísticamente significativa entre cada uno de estos alelos polimórficos y una cierta variación, pero no siempre puede establecerse la relación entre la variante polimórfica y el daño cardiovascular. Además, la frecuencia alélica varía en las distintas poblaciones estudiadas, y el riesgo cardiovascular es también diferente.

GENES Y LIPIDOS PLASMATICOS

La relación entre la alteración en las concentraciones plasmáticas de los componentes lipoproteicos y el riesgo cardiovascular se conoce desde hace tiempo. La hipercolesterolemia familiar es, por ejemplo, la enfermedad monogénica dominante más común, con una frecuencia estimada en heterocigosis de 1/500. Sin embargo, el 80% de las personas con el colesterol elevado poseen una hipercolesterolemia de origen poligénico. La hipercolesterolemia familiar, la disbetalipoproteinemia y la hipertrigliceridemia constituyen enfermedades monogénicas por mutaciones en genes conocidos. Así, en el caso de la hipercolesterolemia, las mutaciones afectan al gen del receptor celular LDL. El mayor problema en la caracterización molecular es que las mutaciones hasta ahora determinadas se presentan en gran número, y su fenotipo varía clasificándose en distintas clases (clase I, II, III, IV y V) sin embargo, la frecuencia en la que se presenta cada una de estas mutaciones es muy pequeña y su identificación dentro de una determinada población no siempre implica que den cuenta del mayor porcentaje de mutaciones^{40,41}.

La contribución de las alteraciones polimórficas en los genes de las distintas apolipoproteínas es muy importante, aun cuando se excluyen las enfermedades monogénicas asociadas a incrementos en determinadas apolipoproteínas⁴².

Se han descrito numerosos polimorfismos génicos en distintos genes de apolipoproteínas. Los que quizá tengan mayor importancia sean los que afec-

tan a las apolipoproteínas B, A-II, C-III, al clúster génico apo A-I-C-III-A-IV y apo E. La mayor parte de las alteraciones polimórficas se detecta mediante el uso de enzimas de restricción, que permiten diferenciar las variantes por su tamaño. La contribución de estas variantes se ve sin embargo, enmascarada por la interacción ambiental, es decir, por factores exógenos, fundamentalmente la dieta y también por la actividad física y por la edad aunque no ocurre lo mismo con todas las lipoproteínas⁴³⁻⁴⁶.

La lipoproteína (a), Lp(a), es estructuralmente similar a la partícula LDL y posee además como componente proteico la apolipoproteína (a)^{41,47}. Pero al contrario de lo que ocurre con las concentraciones de LDL, las concentraciones de Lp(a) permanecen estables a lo largo de toda la vida del individuo, lo que es indicativo del alto grado de heredabilidad. El estudio Framingham ha puesto de manifiesto su papel como factor predictor del riesgo coronario. Una cantidad de lipoproteína (a) genera una capacidad de daño similar a 20 veces ese valor en colesterol LDL. Se ha puesto de manifiesto una relación inversa entre las variaciones de tamaño de la apolipoproteína (a) y las concentraciones de Lp (a), siendo las formas de menor peso molecular las que se asocian con un incremento de los niveles de lipoproteína (a). Las formas de menor tamaño son, por tanto, más aterogénicas⁴⁷⁻⁴⁹. La estructura de la molécula de apolipoproteína (a) es similar en una serie de dominios denominados «Kringles», a la de la molécula del plasminógeno, lo cual hizo pensar en una relación fisiopatológica directa en la génesis de la placa de ateroma. Se elaboró una teoría en la cual esta participación se debería a la unión del activador tisular del plasminógeno a la molécula de apolipoproteína (a) en vez de hacerlo a la molécula de plasminógeno. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de apolipoproteína (a) son, con mucho, inferiores a las de plasminógeno, por lo que resulta difícil imaginar esta inhibición competitiva^{47,48}. Sin embargo, mediante inmunohistoquímica, se pone de manifiesto la presencia de lipoproteína (a), en la placa de ateroma.

La repetición, entre 10 y 40 veces, del denominado «Kringle IV» en la molécula de apolipoproteína (a) es la responsable de generar las distintas isoformas⁴⁸. Dado que este número de repeticiones del Kringle-IV sólo explica una parte de la variabilidad intra e interpoblacional, el análisis de los distintos polimorfismos, con relación a las concentraciones plasmáticas de apolipoproteína (a), se centra también en el análisis de la región promotora del gen.

Ichinose y cols. (1995) identificaron varios polimorfismos en la región 5' del gen. Los polimorfismos de sustitución G/A en -773, C/T en +93 y G/A en

+121 se identifican mediante las endonucleasas Taq I, Mae II y Hha I respectivamente. El polimorfismo +93 C/T se ha asociado con variaciones en las concentraciones plasmáticas de Lp(a). El polimorfismo que se produce por la transición G→T en la región 5' del gen apo(a) crea un codon de inicio AGT que, *in vitro*, reduce la traducción en un 60%⁵⁰. No se ha podido establecer esta disminución en la población europea aunque sí en la africana, probablemente porque en caucásicos existe un desequilibrio de ligamiento entre +93T con alelos de intermedia longitud de la apo (a) (K-24, K-34) y con 9 repeticiones de pentanucleótidos⁵¹. Las repeticiones de los nucleótidos (TTTTA) constituyen variaciones polimórficas que se localizan también en el promotor apo (a)^{19,50}.

En el proceso de formación de la placa de aterosclerosis intervienen multitud de moléculas: quimiocinas, factores de crecimiento, moléculas de adhesión, etc., y aunque el estudio de las interacciones moleculares se centra de forma preferencial en los complejos procesos fisiopatológicos, algunos polimorfismos genéticos presentan también un creciente interés²².

GEN DEL FACTOR TRANSFORMANTE DEL CRECIMIENTO

El factor transformante del crecimiento β (TGF β), constituye una familia de 5 citocinas multifuncionales que presentan estructuras y funciones similares.

El TGF- β 1 posee un importante papel en la modulación del crecimiento celular y en la producción de la matriz extracelular. Numerosos experimentos sugieren una participación directa del TGF β 1 en la fisiopatología cardiovascular. A nivel renal, la sobreexpresión del TGF- β 1 va acompañada de fibrosis y enfermedad glomerular. El riñón es particularmente sensible a la fibrogénesis inducida por la sobreexpresión del TGF β ^{52,53}.

Los polimorfismos asociados a una expresión variable tienen un gran interés ya que su mayor o menor disponibilidad podría afectar a la función endotelial y por tanto al proceso aterosclerótico e influir también en los procesos de remodelado vascular. En un reciente estudio⁵², se identificaron 7 polimorfismos: 3 «corriente arriba del gen» en las posiciones 988, -800 y -509 del primer nucleótido transcrito, 1 en una región no traducida en la posición +72 y 3 en la región del gen que codifica la parte precursora de la proteína pero que no están presentes en la forma activa de la misma. Uno, de los dos polimorfismos que afectan al péptido señal, produce la sustitución Arg25→pro. El alelo Pro²⁵ se asoció con una menor PA sistólica y fue significativamente menos frecuente en homocigóticos o hete-

rocigóticos Pro²⁵ que en homocigóticos Arg²⁵. Sin embargo, el alelo Pro²⁵ se asoció con un riesgo aumentado de IM lo que resulta en una aparente contradicción, pero que probablemente refleja los efectos pleiotrópicos asociados al TGF- β 1.

GENES DEL SISTEMA KALIKREINA-KININA

Mientras este artículo se encontraba en fase de revisión, se ha publicado un artículo de relevante interés que establece el posible papel protector renal y posiblemente cardiovascular (resistencia al daño isquémico) de un polimorfismo génico localizado en la región promotora del gen del receptor B₁R en humanos: GG, GG, CC). Conocemos los dos tipos de receptores del sistema de las kininas (B₁R y B₂R), pertenecientes a la superfamilia de las proteínas G y que son los mediadores de las acciones de las kininas en los diversos tejidos⁵⁴.

Agradecimientos

Queremos dar las gracias por su ayuda en la confección del manuscrito a la Srta. Sandra García y a Juan Ramírez Verona en la ilustración. Igualmente, nuestro agradecimiento para la Fundación Mapfre-Guanarteme y su Junta y al Ilmo. Colegio Oficial de Médicos de Las Palmas por su apoyo en la financiación del proyecto, dentro del cual se ha realizado esta revisión.

BIBLIOGRAFIA

1. Brown JH, Hunt LP, Vites NP, Short CD, Gokal R, Mallick NP: Comparative mortality from cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 9: 1136-1142, 1994.
2. Ritz E: Why are lipids not predictive of cardiovascular death in the dialysis patient? *Miner Electrolyte Metab* 22: 9-12, 1996.
3. Torres MJ, Rodríguez Esparragón F, Sánchez García F, Rodríguez Pérez JC: La integración de la genética molecular en el conocimiento médico. *Med Clin (Barc)*, en prensa, 1998.
4. Doria A, Warram JH, Krolewski AS: Genetic predisposition to diabetic nephropathy: evidence for a role of the angiotensin I converting enzyme gene. *Diabetes* 43: 690-695, 1994.
5. Harden PN, Geddes C, Rowe PA, McIlroy JH, Boulton-Jones M, Rodger RSC, Junor BJR, Briggs JD, Connell JMC, Jardine AG: Polymorphisms in angiotensin-converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet* 345: 1540-1542, 1995.
6. Kouichi T, Umemura S, Fukamizu A, Ishii M, Murakami K: Recent advances in the study of renin and angiotensinogen genes: from molecules to the whole body. *Hypertens Res* 18(1): 7-18, 1995.
7. Kunz R, Kreutz R, Beige J, Distler A, Sharma AM: Association between the angiotensinogen 235T-variant and essential

- hypertension in whites. A systematic review and methodological appraisal. *Hypertension* 30: 1331-1337, 1997.
8. Tiret L, Blanc H, Ruidavets JB, Arveiler D, Luc G, Jeunemaitre X, Tichet J, Mallet C, Poirier O, Plouin PF, Cambien F: Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system in relation to hypertension and parental history of myocardial infarction and stroke: The PEGASE Study. *J Hypertens* 16: 37-44, 1998.
 9. Marre M, Jeunemaitre X, Gallois Y, Rodier M, Chatellier G, Sert C, Dusselier L, Kahal Z, Chaillous L, Halimi S, Muller A, Sackmann H, Bauduceau B, Bled F, Passa P, Alhenc-Gelas F: Contribution of genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes. Génétique de la néphropathie diabétique (GENEDIAB) Study Group. *J Clin Invest* 99(7): 1585-1595, 1997.
 10. Paul M, Wagner J, Dzau B: Gene Expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase Chain Reaction. *J Clin Invest* 91: 2058-2064, 1993.
 11. Mullins JJ, Peters J, Ganten D: Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse ren-2 gene. *Nature* 344: 541-544, 1994.
 12. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel JM, Corvol P: Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71: 169-180, 1992.
 13. Brand E, Chatelain N, Keavney B, Caulfield M, Citterio L, Connell J, Grobbee D, Schmidt S, Schunkert H, Schunter H, Sharma AM, Soubrier F: Evaluation of the angiotensin locus in human essential hypertension. *Hypertension* 31: 725-729, 1998.
 14. Kiema TR, Kauma H, Rantala AO, Lilja M, Reunanen A, Kesäniemi YA, Savolainen MJ: Variation at the angiotensin-converting enzyme gene and angiotensinogen gene loci in relation to blood pressure. *Hypertension* 28: 1070-1075, 1996.
 15. Freire MBS, Ji L, Onuma T, Orban T, Warram JH, Krolewski AS: Gender-specific association of M235T polymorphism in angiotensinogen gene and diabetic nephropathy in NIDDM. *Hypertension* 31: 896-899, 1998.
 16. Katsuya T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Norton R, Horiuchi M, Pratt RE, Dzau VJ, MacMahon S: Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 345: 1600-1603, 1995.
 17. Morgan T, Craven C, Nelson L, Lalouel JM, Ward K: Angiotensinogen T235 expression is elevated in decidual spiral arteries. *J Clin Invest* 100(6): 1406-1415, 1997.
 18. Pei Y, Scholey J, Thai K, Suzuki M, Catran D: Association of angiotensin gene T235 variant with progression of immunoglobulin A nephropathy in caucasian patients. *J Clin Invest* 100(4): 814-820, 1997.
 19. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Jeunemaitre X, Lalouel JM: A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 99(7): 1786-1797, 1997.
 20. Sato N, Katsuya T, Rakugi H, Takami S, Nakata Y, Miki T, Higaki J, Ogihara T: Association of variants in critical core promoter element of angiotensinogen gene with increased risk of essential hypertension in japanese. *Hypertension* 30 (part. 1): 321-325, 1997.
 21. Ribichini F, Steffenins G, Dellavalle A, Matullo G, Colajanni E, Camilla T, Vado A, Benetton G, Uslenghi E, Piazza A: Plasma activity and insertion/deletion polymorphisms of angiotensin I-converting enzyme. A major risk factor and a marker of risk for coronary stent restenosis. *Circulation* 97: 147-154, 1998.
 22. Guijarro C, Tuñón J, Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, Plaza JJ, Egido J: La formación de la placa aterosclerosa: un proceso inflamatorio y fibroproliferativo. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 9 (Supl. 2): 3-14, 1997.
 23. Cambien F, Poirier O, Leclerc L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F: Deletion polymorphisms in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359: 641-644, 1992.
 24. Harrap SB, Davidson HR, Connor JM, Soubrier F, Corvol P, Fraser R, Foy CJW, Watt GCM: The angiotensin I converting enzyme gene and predisposition to high blood pressure. *Hypertension* 21(4): 455-460, 1993.
 25. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, Lamotte F, Buring J, Hennekens CH: A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 332: 706-711, 1995.
 26. Reynolds MV, Bristow MR, Bush EW, Abraham WT, Lowes BD, Zisman LS, Taft CS, Perryman MB: Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 342: 1073-1075, 1993.
 27. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R, Fagard R: The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens* 15(12 Pt 2): 1579-1592, 1997.
 28. Ha SK, Seo JK: Insertion/deletion polymorphism in ACE gene as a predictor for progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 52 (Suppl. 60): S-8-S-32, 1997.
 29. Hernández D, Lacalzada J, Rufino M, Torres A, Martín N, Barragán A, Barrios Y, Macía M, De Bonis E, Lorenzo V, Rodríguez A, González-Posada JM, Salido E: Prediction of left ventricular mass changes after renal transplantation by polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene. *Kidney Int* 51: 1205-1211, 1997.
 30. Hunley TE, Julian BA, Phillips III JA, Summar ML, Yoshida H, Horn RG, Brown NJ, Fogo A, Ichikawa I, Kon V: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism: potential silencer motif and impact on progression in IgA nephropathy. *Kidney Int* 49: 571-577, 1996.
 31. McLaughlin KJ, Harden PN, Ueda S, Boulton-Jones JM, Connell JMC, Jardine AG: The role of genetic polymorphisms of angiotensin-converting enzyme in the progression of renal diseases. *Hypertension* 28: 912-915, 1996.
 32. Van der Kleij FGH, Schmidt A, Navis GJ, Haas M, Yilmaz N, De Jong PE, Mayer G, De Zeeuw D: Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism and short-term renal response to ACE inhibition: role of sodium status. *Kidney Int* 53 (Suppl. 63): 23-26, 1998.
 33. Bonnardeaux A, Davier E, Jeunemaitre X, Féry I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 24: 63-69, 1994.
 34. Wang XL, Wang J, McCredie RM, Wilcken DEL: Polymorphisms of factor V, factor VII and fibrinogen genes. Relevance to severity of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17(2): 246-251, 1997.
 35. Heinrich J, Funke H, Rust S, Schulte H, Schönfeld R, Köhler E, Assmann G: Impact of polymorphisms in the alpha- and beta-fibrinogen gene on plasma fibrinogen concentrations of coronary heart disease patients. *Thrombosis Research* 77(3): 209-215, 1995.
 36. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambou J, Scarabin P, Bara L, Green F, Cambien F: β -fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. *Circulation* 93: 440-449, 1996.

37. Anderson JL, King G, Thomson MJ, Todd M, Bair TL, Muhlestein JB, Carlquist JF: A mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is not associated with increased risk for coronary artery disease or myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 30: 1206-1211, 1997.
38. Brattström L: Common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene offers no support for mild hyperhomocysteinemia being a causal risk factor for cardiovascular disease. *Circulation* 96(10): 3805-3806, 1997.
39. Reuner KH, Ruf A, Kaps M, Druschky KF, Patscheke H: The mutation C667→T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene and stroke. *Thromb Haemost* 79: 450-451, 1998.
40. Jover E: Clasificación y diagnóstico de las dislipidemias. En: *Metabolismo lipídico. Sociedad y colesterol*. Fundación Jiménez Díaz. De Oya M y Carcés C (eds.). 132-163, 1997.
41. Tall AR: Plasma high density lipoproteins, metabolism and relationship to atherosclerosis. *J Clin Invest* 86: 379-384, 1990.
42. Berg K: Predictive genetic testing to control coronary heart disease and hyperlipidemia. *Arteriosclerosis* 9 (Suppl. 1): 150-158, 1989.
43. Bydlowski SP, Novak EM, Carmona R, Junqueira ML, Diamant J, Chamone DAF: ApoAI-CIII-AIV gene cluster: a marker for coronary heart disease? *Clin Res* 42: 203A, 1994.
44. Lohse P, Kindt MR, Rader DJ, Brewer BH Jr.: Genetic polymorphisms of human plasma apolipoprotein A-IV gene. is due to nucleotide substitutions in the apolipoprotein A-IV gene. *J Biol Chem* 265: 10061-10664, 1990.
45. Ludwig EH, Hopkins PN, Allen A, Wu LL, Williams RR, Anderson JL, Ward RH, Lalouel JM, Innerarity TL: Association of genetic variations in apolipoprotein B with hypercholesterolemia, coronary artery disease, and receptor binding of low density lipoproteins. *J Lipid Res* 38: 1361-1373, 1997.
46. Turner PR, Talmud PJ, Visvikis S, Ehnholm C, Tiret L: DNA polymorphisms of the apoprotein B gene are associated with altered plasma lipoprotein concentrations but not with perceived risk of cardiovascular disease: european atherosclerosis research study. *Atherosclerosis* 116(2): 221-234, 1995.
47. Kamboh MI, Ferrell RE, Kottke BA: Expressed hypervariable polymorphism of apolipoprotein (a). *Am J Hum Genet* 49: 1063-1074, 1991.
48. Lackner C, Colien JC, Hobbs HH: Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein (a). *Hum Molec Genet* 2: 993-940, 1993.
49. Utermann G, Duba C, Mennzel HJ: Genetic of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. II. Inheritance of Lp(a) glycoprotein phenotypes. *Hum Genet* 78: 47-50, 1988.
50. Ichinose A, Kuriyama M: Detection of polymorphisms in the 5-prime-flanking region of the gene for apolipoprotein (a): *Biochem Biophys Commun* 209: 372-378, 1995.
51. Kraft HG, Windegger M, Menzel HJ, Utermann G: Significant impact of the +93 C/T polymorphism in the apolipoprotein (a) gene on Lp(a) concentrations in africans but not in caucasians: confounding effect of linkage disequilibrium. *Hum Mol Genet* 7(2): 257-264, 1998.
52. Cambien F, Ricard S, Troesch A, Mallet C, Generenz L, Evans A, Arveiler D, Luc G, Ruidavets JB, Poirier O: Polymorphisms of the transforming growth factor-β1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The etude cas-tomoin the l'infarctus dy myocarde (ECTIM) study. *Hypertension* 28: 881-887, 1996.
53. Bray P, Agrotis A, Bobik A: Transforming growth factor-β and receptor tyrosine kinase-activating growth factors negatively regulate collagen genes in smooth muscle of hypertensive rats. *Hypertension* 31: 986-994, 1998.
54. Bachvarov DR, Landry M, Pelletier I, Chevrette M, Betard C, Houde I, Bergeron J, Lebel M, Marceau F: Characterization of two polymorphic sites in the human kininB1 receptor gene: Altered frequency of an allele in patients with a history of end stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 9: 598-604, 1998.

NEFROLOGIA

Publicacion Oficial de la Sociedad Española de Nefrología



Nota de la Redacción:

Por su emotividad y pese a haber publicado ya una necrológica dedicada al Dr. Luis Orofino recogemos este escrito y mensaje del equipo de Nefrología de la Fundación Hospital Alcorcón remitido a la Redacción de nuestra revista.

A Luis Orofino

Hace un año nos invitaste a participar en un sueño. Fue un verdadero lujo tenerte a nuestro lado. Continuaremos lo que tú empezaste con tanta ilusión y cariño. ¿Verdad que sigues atento a lo que hacemos? Te queremos.

Katia, Vicente y Pablo
Unidad de Nefrología



FUNDACION
HOSPITAL ALCORCON