

POLYMORPHISMES DES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE ET PROGRESSION DE L'ATTEINTE RÉNALE : UNE REVUE CRITIQUE

par

C. ZOCCALI, A. TESLA et B. SPOTO*

PROGRESSION DE L'ATTEINTE RÉNALE : TAUX DE PROGRESSION VARIABLES, FACTEURS VARIÉS

Les maladies rénales peuvent être déclenchées par un grand nombre de facteurs. Rarement, ces facteurs opèrent de façon isolée ; le plus souvent, il y a conspuration de plusieurs facteurs pour initier une maladie. Le répertoire des facteurs délétères pour le rein est varié. Il comprend aussi bien des agressions immunologiques et infectieuses que des perturbations métaboliques. La perte de fonction qui s'observe dans les phases initiales des différents types d'atteinte rénale dépend de la nature et de l'importance de la lésion rénale initiale qui peut continuer à jouer un rôle à travers toute l'histoire naturelle de la maladie [1]. Cependant, il a été reconnu progressivement qu'après la phase initiale d'autres facteurs entrent en scène. Ces facteurs secondaires peuvent devenir dominants et peuvent même être plus directement liés à la vitesse de dégradation de la fonction rénale que la lésion initiale. Parmi ces facteurs secondaires, on attribue une importance majeure à l'hypertension systémique et à l'hypertension glomérulaire. Le rôle de ces facteurs dans la détérioration progressive de la fonction rénale chez l'homme est récemment entré dans le domaine de la « médecine basée sur les preuves », cela surtout en raison de trois études cliniques bien conçues, ayant examiné l'effet de trois inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC), le captopril dans la néphropathie diabétique [2], ainsi que le bénazepril [3] et le ramipril [4] dans les néphropathies non-diabétiques. Ces études ont montré de façon cohérente que le contrôle de l'hypertension

* CNR Centro Fisiologia Clinica & Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Reggio Calabria, Italy.

systémique et de l'hypertension glomérulaire peut considérablement retarder l'insuffisance rénale terminale. Une suggestion importante, faite à partir de ces études d'intervention, est que le système rénine-angiotensine est un acteur majeur dans la progression des néphropathies.

Si nous passons des données moyennes sur la perte de la fonction rénale dans les essais cliniques vers le malade individuel, la variabilité du taux de progression est surprenante. Même chez des patients atteints de la même maladie, la variabilité est très grande. Celle-ci dépend du potentiel d'agression de l'événement original, de l'influence de facteurs environnementaux et de la susceptibilité génétique individuelle à développer des lésions rénales. C'est ce dernier point que nous souhaitons passer en revue, en rapport avec le système rénine-angiotensine. Nous porterons notre attention tout particulièrement sur la progression de l'atteinte rénale dans les néphropathies non diabétiques parce que la néphropathie diabétique a déjà fait l'objet d'un examen exhaustif dans quatre méta-analyses récentes [5-7]. Quelques observations récemment publiées par le groupe GISEN [8] et quelques données nouvelles provenant du même groupe seront présentées et comparées avec des études antérieures.

POLYMORPHISME DES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE

La liste des gènes candidats qui peuvent conférer une susceptibilité particulière à la fibrose rénale progressive et à la perte de la fonction rénale est vaste [9]. Il y a des raisons de penser que parmi le large spectre des gènes potentiellement impliqués, les gènes contrôlant le système rénine-angiotensine sont importants. Le rôle de ce système va bien au-delà du contrôle de la pression artérielle parce que l'angiotensine II, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et l'angiotensinogène ont tous les trois leur importance dans le développement du rein, et parce que des modèles de délétion ou de surexpression du gène ECA ont montré de façon convaincante que des altérations de l'expression de ces gènes peuvent être associées à des modifications de la structure et/ou de la fonction du rein [10-12]. De l'autre côté, l'angiotensine II exerce plusieurs autres actions directes et indirectes, bien au-delà de la vasoconstriction. Ces effets incluent des actions pro-inflammatoires et fibrosantes [13]. Comme déjà mentionné plus haut, l'effet néphroprotecteur des IEC suggère que chez l'homme, les gènes régulant le système rénine-angiotensine jouent probablement un rôle important. Les polymorphismes les plus étudiés du système rénine-angiotensine sont ceux de la molécule précurseur, l'angiotensinogène, de l'étape enzymatique finale représentée par le gène ECA, et le récepteur de l'agoniste majeur du système, l'angiotensine II (avec le récepteur AT1). Le gène de l'angiotensinogène qui est localisé sur le chromosome 1 a été étudié de façon intensive chez les patients atteints d'hypertension artérielle et chez des sujets souffrant de complications athéromateuses. Une mutation « faux-sens » en position de 235, thréonine à la place de méthionine, a été trouvée associée à une concentration d'angiotensinogène plasmatique élevée, ainsi qu'à l'hypertension artérielle [14]. Pour cette raison, l'allèle T est considéré comme un allèle de risque. Sans aucun doute le génotype ECA est celui qui a été le plus étudié dans les domaines cardiovasculaire et rénal. Il a été estimé que plus de cent mille sujets ont été étudiés à travers le monde. Un polymorphisme important de ce gène qui est lié à l'intron 16 du chromosome 17, est celui qui est défini par la présence (insertion ou I) ou l'absence (délétion ou D) d'une séquence de 278 paires de bases

(pb). L'allèle D est un allèle de risque parce qu'il est associé à une activité ECA accrue, à l'hypertension artérielle, et peut être aussi à un risque cardiovasculaire accru [8]. Avant de discuter quelques contributions récentes faites par le groupe GISEN, nous passerons brièvement en revue des études consacrées aux néphropathies progressives non-diabétiques, en centrant notre intérêt sur l'association de ces deux gènes avec l'évolutivité des atteintes rénales ainsi qu'avec la réponse aux traitements pharmacologiques (c'est-à-dire la pharmacogénétique du système rénine-angiotensine).

GÈNE DE L'ANGIOTENSINOGENÈ ET PROGRESSION DES ATTEINTES RÉNALES

Le gène de l'angiotensinogène a été peu étudié dans les néphropathies non-diabétiques. La première étude concerne 168 malades caucasiens atteints de néphropathies à IgA [15]. Les malades avec un génotype MT et/ou TT avaient une détérioration plus rapide de la clairance de la créatinine et des valeurs maximales plus élevées de protéinurie que ceux ayant le génotype MM. De plus, une analyse multivariée a permis de détecter une interaction entre les polymorphismes du gène de l'angiotensinogène et de celui de l'ECA, parce que l'homozygotie pour l'allèle T (gène ECA) et pour l'allèle M (gène de l'angiotensinogène) était associée à un taux de progression plus rapide. Cela suggère que les polymorphismes de ces locus géniques sont des marqueurs importants pour la prédiction de la progression de l'insuffisance rénale chronique au cours de la néphropathie à IgA. La deuxième étude, ayant recherché une association chez 64 malades caucasiens atteints de néphropathies à IgA, a conduit à des résultats négatifs [16]. De même, deux autres études effectuées respectivement chez des enfants atteints de glomérulosclérose focale et chez des adultes atteints de maladies polykystiques, n'ont pas permis de démontrer une association entre le gène de l'angiotensinogène et l'évolution de l'insuffisance rénale [17, 18]. À ce jour, aucune étude n'a été effectuée dont le but était d'examiner le pouvoir prédictif du polymorphisme du gène de l'angiotensinogène quant à la réponse aux divers traitements pharmacologiques dans la progression des atteintes rénales.

GÈNE ECA ET PROGRESSION DE L'ATTEINTE RÉNALE

L'intérêt des néphrologues pour le polymorphisme du gène ECA a été stimulé par l'observation de Yoshida et al, sur la néphropathie à IgA parue dans le *Journal of Clinical Investigation* 1995 [19]. Ces auteurs ont divisé en deux groupes une petite cohorte de malades (37 malades seulement), avec une fonction rénale initialement normale. Les uns avaient une atteinte rénale stable, appelés « non progressseurs », alors que les autres voyaient leur fonction rénale se dégrader, appelés « progressseurs ». Malgré la petite taille de cette cohorte, la fréquence du génotype DD paraissait significativement plus grande chez les progressseurs que chez les non progressseurs, ce qui suggérait un rôle important de ce polymorphisme pour ce type de néphropathie chez l'homme. Cette étude a attiré l'attention des investigateurs du monde entier. Par la suite, 20 études [15-18] ont examiné l'influence de ce génotype dans différents types de néphropathies non diabétiques et ont été publiées dans des journaux internationaux avec comité de lecture (tableau I). Sept

TABLEAU I. — L'ALLÈLE D DU GÈNE ECA DANS LES NÉPHROPATHIES NON DIABÉTIQUES

| | RÉFÉRENCE | NOMBRE DE PATIENTS | CRITÈRES D'ÉVOLUTION | ASSOCIATION |
|---|-----------|--------------------|---|-------------|
| NÉPHROPATHIE À IgA | | | | |
| Stratta P | 26 | 81 | Progression-Protéinurie | Oui |
| Tanaka R | 25 | 97 | Protéinurie | Oui |
| Hunley TE | 16 | 64 | Progression | Oui |
| Harden PN | 23 | 100 | Progression | Oui |
| Pei | 15 | 168 | Progression-Protéinurie | Non |
| Yorioka T | 22 | 48 | Progression | Oui |
| Schmidt S | 21 | 204 | Progression | Non |
| LÉSIONS GLOMÉRULAIRES MINIMES/HYALINOSE SEGMENTAIRE ET FOCALE | | | | |
| Lee DY | 27 | 55 | Réponse incomplète aux stéroïdes, progression | Oui |
| Frishberg Y | 17 | 47 | Progression | Oui |
| SCHÖNLEIN HENOCH | | | | |
| Amoroso A | 28 | 82 | Rechutes | Oui |
| Yoshioka T | 29 | 79 | Protéinurie | Oui |
| NÉPHROANGIOSCLÉROSE | | | | |
| Mallamaci F | 31 | 49 | Association avec maladie | Oui |
| Fernandez Lama P | 30 | 37 | " | Oui |
| ADPKD | | | | |
| Ozen S | 32 | 41 | Progression | Oui |
| Baboolal K | 18 | 189 | Progression | Oui |
| TRANSPLANTATION | | | | |
| Broekroelofs J | 33 | 367 | Progression | Oui |

études parmi elles étaient dédiées à la néphropathie à IgA. Si nous considérons la progression vers l'insuffisance rénale comme un critère d'évolution, 5 étaient positives [16, 22, 23, 25, 26] mais deux négatives [15, 21]. Cela dit, dans l'étude de Schmidt et al. [21] la fréquence des homozygotes DD parmi les malades avec insuffisance rénale terminale était légèrement plus grande que celle des patients ayant une fonction rénale stable ($P = 0,07$). D'autres petites études ont été consa-

créées à d'autres glomérulopathies, la maladie à lésions glomérulaires minimes [27] et la glomérulosclérose segmentaire et focale [17]. Elles étaient à nouveau positives. La liste des atteintes rénales étudiées est plutôt large. Elle inclut la néphroangiosclérose [30, 31], la maladie polykystique [18], la néphropathie du transplant [33] et le reflux vésico-urétéral [34]. La limite majeure de ces études est le petit nombre des sujets inclus, et leur nature rétrospective. Dans l'ensemble, ces études indiquent que l'allèle D prédit une progression plus rapide des atteintes rénales. Cela dit, un biais de publication, suggéré par le fait que les études les plus grandes étaient négatives [15-21], rend l'interprétation des résultats quelque peu problématique. Ainsi, des incertitudes restent à l'heure actuelle, qui ne peuvent être résolues que par des études encore plus larges, de réalisation prospective et non pas rétrospective.

PHARMACOGÉNÉTIQUE DU GÈNE DE L'ANGIOTENSINOGENÈ ET DU GÈNE ECA

La pharmacogénétique du gène ECA, c'est-à-dire la possibilité de prédire une réponse néphroprotectrice aux IEC est un sujet d'aussi grande importance. Moriyama et al [20] étaient les premiers à étudier la relation entre l'allèle D et l'effet anti-protéinurique des IEC chez un petit groupe de malades (n = 36) atteints de maladies protéinuriques variées. Dans cette étude, les malades ont été divisés en deux groupes sur la base de leur réponse à une inhibition de l'ECA à court terme (trois mois). L'allèle D était significativement plus fréquent parmi les réponders que parmi les non-réponders, suggérant un pouvoir de prédiction pour une réponse anti-protéinurique favorable pour cette classe de médicaments. Après l'étude de Moriyama et al, trois autres études pharmacogénétiques [24, 34, 35] ont été publiées. Aucune des trois n'a pu confirmer cette association entre l'allèle D et la rénoprotection des IEC. Mais la petite taille des échantillons était à nouveau une faiblesse commune à ces études. Dans l'étude de van Essen et al, un nombre de 17 homozygotes DD seulement a été inclus [34].

En résumé, le gène de l'angiotensinogène a été peu étudié dans les néphropathies progressives non diabétiques. L'allèle T semble prédire une progression plus rapide chez des patients atteints de néphropathies à IgA, mais ce sujet mérite d'être étudié de façon encore plus approfondie. Les controverses persistent quant à une possible influence de l'allèle D du gène ECA sur la progression de l'insuffisance rénale, et il n'est pas encore clair si l'allèle D prédit la réponse à une inhibition de l'ECA.

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DE LA PROGRESSION DES ATTEINTES RÉNALES DANS L'ÉTUDE REIN

L'étude REIN [36], qui est une étude prospective, randomisée, à double insu et contrôlée, s'est attachée à comparer l'effet néphroprotecteur des IEC à celui d'autres drogues quant à la progression des atteintes rénales non-diabétiques. Elle était l'occasion unique de réexaminer ce genre de problème. L'objectif primaire de l'étude REIN était la vitesse de décroissance du débit de filtration glomérulaire (DFG). De plus un objectif combiné a été défini, consistant en trois événements rénaux majeurs : l'initiation de la dialyse, la réalisation d'une transplantation et/ou un doublement de la créatinine sérique. Le DFG était mesuré par la clairance plasmatique de l'iohexol, qui est un moyen très fiable de mesurer ce paramètre [37].

La protéinurie était un objectif secondaire. Nous avons étudié l'association entre les génotypes de l'angiotensinogène et de l'ECA et ces trois critères, à l'aide de méthodes d'analyses univariées et multivariées, chez 213 malades, c'est-à-dire chez à peu près les deux tiers de la cohorte d'étude initiale [36].

Gènes de l'angiotensinogène et de l'ECA et objectifs primaires

La vitesse de progression de l'atteinte rénale a été quantifiée sur la base de la perte de fonction rénale par mois, Δ DFG/mois. La première analyse a été conduite dans la cohorte entière, c'est-à-dire les patients traités par le ramipril ou le placebo. Comme le montre la figure 1 (côté gauche), la vitesse de décroissance du DFG était comparable pour les trois génotypes de l'angiotensinogène, MM, MT et TT. De même, ces trois polymorphismes ne permettaient pas de prédire l'objectif combiné. La partie droite (en haut) de la figure 1, montre la vitesse de progression en relation avec le gène ECA. La diminution de la fonction rénale était de l'ordre de 0,4 ml/min/mois chez les malades DD, ce qui n'était pas significativement différent de la vitesse de décroissance chez les hétérozygotes et chez les homozygotes II. De même, la fréquence des trois génotypes ECA n'était pas différente pour l'objectif combiné. Puisque l'influence du gène ECA sur la progression de l'atteinte rénale aurait pu être confondue par le traitement pharmacologique et aussi par l'âge et le sexe [38], nous avons procédé à une analyse multivariée, ajustée pour l'âge et le sexe des malades traités par placebo. Dans cette analyse, l'allèle D n'était pas capable de prédire la vitesse de la perte de fonction rénale. Cependant, dans un modèle similaire, cet allèle était le prédicteur le plus puissant pour les événements combinés (dialyse, transplantation, et doublement de la créatinine sérique). Il était capable d'expliquer à peu près 10 p. 100 de la variabilité de cet objectif primaire (fig. 2). Puisque des interactions entre les gènes du système rénine-angiotensine sont susceptibles de contribuer ensemble à l'accélération de l'évolution d'atteinte rénale, nous avons analysé l'influence combinée de ces allèles de risque pour le gène de l'angiotensinogène (allèle M) et le gène ECA (allèle D) sur les taux d'événements, à l'aide d'un modèle multivarié. Le score de risque combiné (la somme des allèles de risque) n'était pas capable de prédire le taux des événements de façon significative ($P = 0,12$). Une étude plus puissante est nécessaire pour déterminer un effet combiné de ces gènes.

Pharmacogénétique du gène de l'angiotensinogène et du gène ECA

Comme le montre la figure 3, les homozygotes MM pour le gène de l'angiotensinogène avaient un taux d'événements significativement plus bas (objectif combiné) que les malades traités par placebo, alors qu'un tel effet n'a pas été observé chez les homozygotes TT. Une tendance similaire (NS) a été trouvée chez les hétérozygotes, suggérant que cet allèle est associé à une réponse favorable à l'inhibition de l'ECA. Cependant, lorsque nous avons examiné la relation de ces génotypes avec le taux de progression, un effet similaire n'a pu être détecté. Il reste ainsi incertain si l'allèle M prédit une réponse favorable aux IEC.

Le génotype ECA avait un pouvoir de prédiction plus solide pour la néphroprotection. Chez les malades DD traités par le ramipril, la vitesse de la perte de fonction rénale était nettement moins grande que chez les patients DD traités par placebo

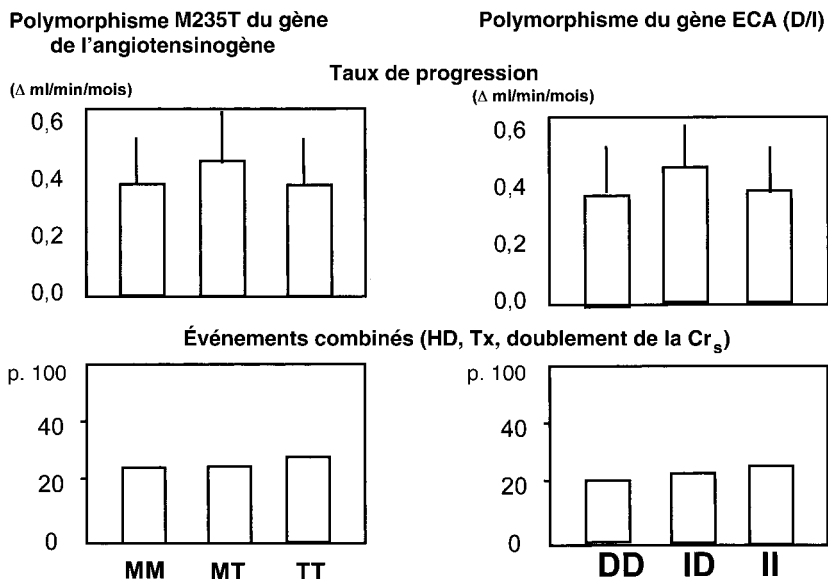


FIG. 1. — L'association entre le polymorphisme M235T du gène de l'angiotensinogène (à gauche) et le polymorphisme Insertion-Délétion du gène ECA d'une part, et le taux de progression de la maladie rénale et des événements rénaux combinés (dialyse, transplantation et doublement de la Cr_s) d'autre part, dans l'étude REIN.

(0,43 ml/min/mois contre 0,28 ml/min/mois, – 31 p. 100, fig. 4). Au contraire, un tel effet n'a pu être observé chez les malades DI ou II. Ainsi, la réponse néphroprotectrice aux IEC était essentiellement limitée aux malades DD alors que pratiquement aucune néphroprotection n'a pu être montrée chez les deux autres génotypes. De même, lorsque nous avons analysé les données en termes d'événements rénaux, l'incidence était de 36 p. 100 chez les homozygotes DD traités par le placebo, mais seulement de 14 p. 100 chez les homozygotes DD traités par le ramipril. À nouveau, aucune différence n'a pu être observée chez les hétérozygotes DI ou chez les homozygotes II. Ainsi, le polymorphisme du gène ECA paraît être associé à une réponse rénale favorable aux IEC. La protéinurie est un paramètre important pour prédire des événements adverses chez les patients atteints de néphropathies. C'est pourquoi il est considéré comme un important objectif indirect. À cet égard, il est intéressant de noter que les effets à court terme du ramipril (trois mois de traitement) sur la protéinurie étaient plus prononcés dans les sous-groupes DD (–38 p. 100) que dans les sous-groupes DI ou II (–22 p. 100). De plus, chez les malades traités par le ramipril, la réduction de la protéinurie était inversement corrélée à la vitesse de progression sur l'ensemble de la période d'observation ($r = 0,41$; $p = 0,02$), alors qu'une telle corrélation n'a pas été observée chez les patients DI ou II. Dans l'ensemble, ces données sont importantes puisqu'elles ont été obtenues dans une étude prospective randomisée, à double insu et contrôlée, et que la principale mesure d'évolution, le DFG, a été estimée par une technique (la clairance de l'iohexol) beaucoup plus fiable que la clairance de la créatinine.

Événements rénaux combinés

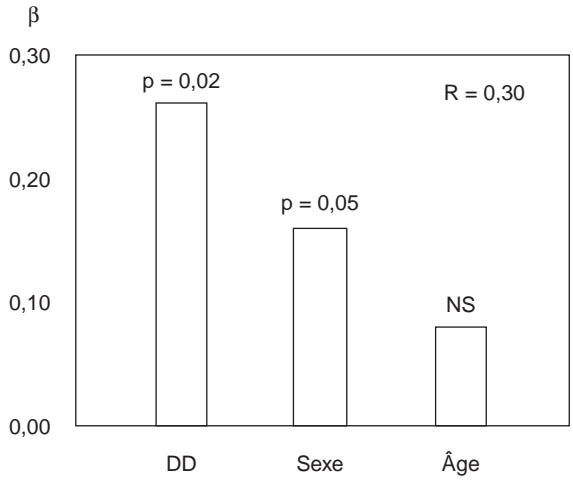


FIG. 2. — Analyse multivariée des événements rénaux combinés (dialyse, transplantation et doublement de la Cr_s) chez des malades traités par placebo dans l'étude REIN. Le sexe et l'homozygotie pour l'allèle D étaient prédictifs d'un nombre plus élevé d'événements rénaux.

Pharmacogénétique du polymorphisme M235T du gène de l'angiotensinogène

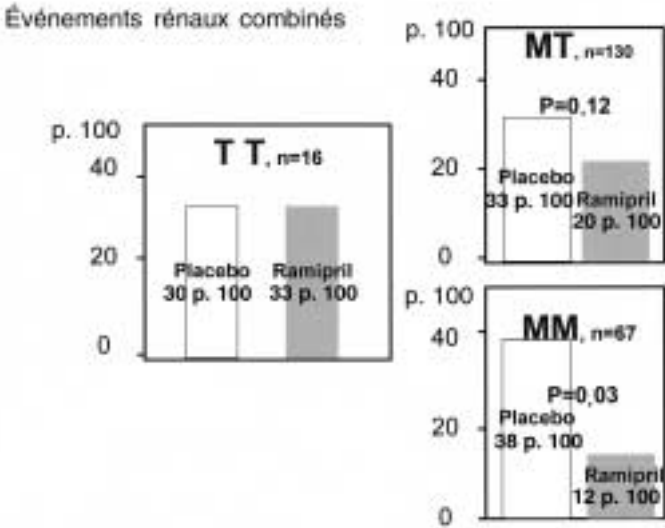


FIG. 3. — L'association entre le polymorphisme M235T du gène de l'angiotensinogène et des événements rénaux combinés (dialyse, transplantation et doublement de la Cr_s) chez des patients traités par placebo et par ramipril dans l'étude REIN. (Voir texte.)

Pharmacogénétique du polymorphisme D/I du gène ECA

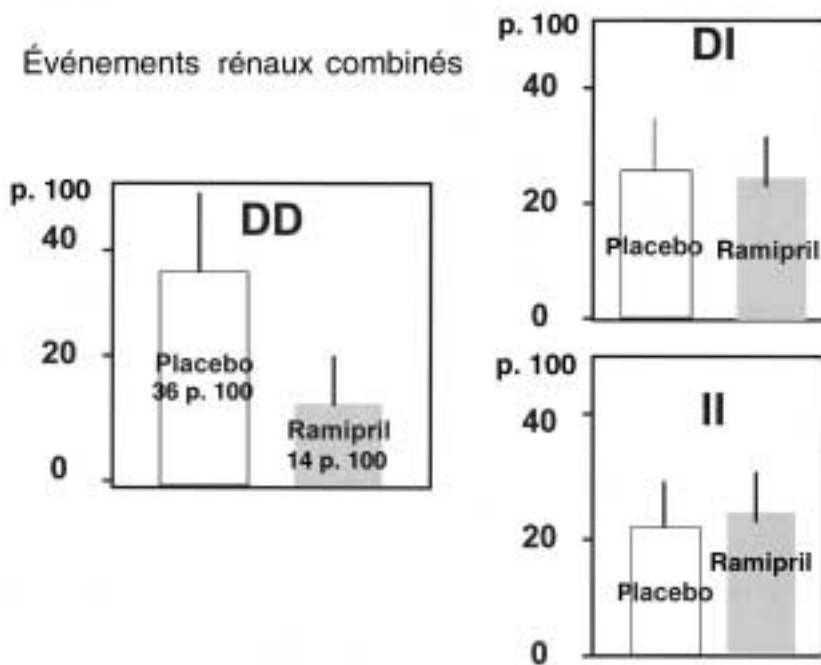


FIG. 4. — L'association entre le polymorphisme Insertion-Délétion du gène ECA et des événements rénaux combinés (dialyse, transplantation et doublement de la Cr_s) chez des patients traités par placebo et par ramipril dans l'étude REIN. (Voir texte.)

CONCLUSIONS MAJEURES DES ÉTUDES GÉNÉTIQUES MOLÉCULAIRES SUR LE SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE DANS L'ÉTUDE REIN

La progression de l'atteinte rénale paraît liée de façon indépendante à l'allèle D du gène ECA chez des patients traités par des médicaments autres que les IEC. Le gène de l'angiotensinogène semble être un marqueur de la progression de l'atteinte rénale dans la néphropathie à IgA.

Le génotype ECA prédit, de façon cohérente, un effet néphroprotecteur de l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. L'allèle M du gène de l'angiotensinogène est faiblement associé à un taux d'événements réduit chez les patients traités par le ramipril. Cet effet peut cependant être dû à une observation aléatoire. Il doit être étudié à nouveau chez un groupe de patients plus étendu.

Remerciements

Nous remercions très vivement le Pr Tilman Drüeke qui a bien voulu se charger de la traduction de ce texte.

BIBLIOGRAPHIE

1. WILSON CB. Renal response to immunologic glomerular injury. *In*: Brenner B. The Kidney. 5th Ed. Edited WB Saunders. Philadelphia, 1996: 1253-1391.
2. LEWIS EJ, HUNSICKER LG, BAIN RP ET AL. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med*, 1993; **329**: 1456-62.
3. MASCHIO G, ALBERTI D, JANIN G ET AL. Effect of the Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor Benazepril on the Progression of Chronic Renal Insufficiency. The angiotensin-converting enzyme inhibition in progressive renal insufficiency study group. *N Engl J Med*, 1996; **334**: 939-45.
4. THE GISEN GROUP. Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet*, 1997; **349**: 1857-63.
5. FUJISAWA T, IKEGAMI H, KAWAGUCHI Y ET AL. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia*, 1998; **41**: 47-53.
6. KUNZ R, BORK JP, FRITSCH E ET AL. Association between the angiotensin-converting enzyme-insertion/deletion polymorphism and diabetic nephropathy: a methodologic appraisal and systematic review. *J Am Soc Nephrol*, 1998; **9**(9): 1653-1663.
7. KENNON B, PETRIE JR, SMALL ET AL. Angiotensin-converting enzyme gene and diabetes mellitus. *Diabetic Med*, 1999; **16**: 448-458.
8. STAESSEN JA, WANG JG, GINOCCHIO G ET AL. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertension*, 1997; **15**: 1579-1592.
9. SCHELLING JR, ZARIF L, SEHGAL A ET AL. Genetic susceptibility to end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1999; **8**: 465-472.
10. KREGE JH, KIM HS, MOYER JS ET AL. Angiotensin-converting enzyme gene mutations, blood pressures, and cardiovascular homeostasis. *Hypertension*, 1997; **29**(1 Pt 2):150-157.
11. OLIVERIO MI, KIM HS, ITO M. Reduced growth, abnormal kidney structure, and type 2 (AT₂) angiotensin receptor-mediated blood pressure regulation in mice lacking both AT_{1A} and AT_{1B} receptors for angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; **95**: 15496-15501.
12. FERN RJ, YESKO CM, THORNHILL BA ET AL. Reduced angiotensinogen expression attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy in mice. *J Clin Invest*, 1999; **103**: 39-46.
13. MATSUSAKA T, HYMES J, ICHIKAWA I. Angiotensin in progressive renal diseases: theory and practice. *J Am Soc Nephrol*, 1996; **7**: 2025-2043.
14. STAESSEN JA, KUZNETSOVA T, WANG JG ET AL. M235T angiotensinogen gene polymorphism and cardiovascular renal risk. *J Hypertens*, 1999; **17**: 9-17.
15. PEI Y, SCHOLEY J, THAI K ET AL. Association of angiotensinogen gene T235 variant with progression of immunoglobulin A nephropathy in Caucasian patients. *J Clin Invest*, 1997; **100**: 814-820.
16. HUNLEY TE, JULIAN BA, PHILLIPS JA, 3rd. ET AL. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism: potential silencer motif and impact on progression in IgA nephropathy. *Kidney Int*, 1996; **49**: 571-577.
17. FRISHBERG Y, BECKER-COHEN R, HALLE D ET AL. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the outcome of focal segmental glomerulosclerosis in children. *Kidney Int*, 1998; **54**: 1843-1849.
18. BABOOLAL K, RAVINE D, DANIELS J ET AL. Association of the angiotensin I converting enzyme gene deletion polymorphism with early onset of ESRF in PKD1 adult polycystic kidney disease. *Kidney Int*, 1997; **52**: 607-613.
19. YOSHIDA H, MITARAI T, KAWAMURA T ET AL. Role of the deletion of polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest*, 1995; **96**(5): 2162-2169.
20. MORIYAMA T, KITAMURA H, OCHI S ET AL. Association of angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism with susceptibility to antiproteinuric effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in patients with proteinuria. *J Am Soc Nephrol*, 1995; **6**: 1676-1678.
21. SCHMIDT S, STIER E, HARTUNG R ET AL. No association of converting enzyme insertion/deletion polymorphism with immunoglobulin A glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*, 1995; **26**: 727-731.

22. YORIOKA T, SUEHIRO T, YASUOKA N ET AL. Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and clinical aspects of IgA nephropathy. *Clin Nephrol*, 1995; **44**: 80-85.
23. HARDEN PN, GEDDES C, ROWE PA ET AL. Polymorphisms in angiotensin-converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet*, 1995; **345**: 1540-1542.
24. BURG M, MENNE J, OSTENDORF T ET AL. Gene-polymorphisms of angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase in patients with primary glomerulonephritis. *Clin Nephrol*, 1997; **48**: 205-211.
25. TANAKA R, IJIMA K, MURAKAMI R ET AL. ACE gene polymorphism in childhood IgA nephropathy: association with clinicopathologic findings. *Am J Kidney Dis*, 1998; **31**: 774-779
26. STRATTA P, CANAVESE C, CICCONE G ET AL. Angiotensin I-converting enzyme genotype significantly affects progression of IgA glomerulonephritis in an Italian population. *Am J Kidney Dis*, 1999, **33**: 1071-1079
27. LEE DY, KIM W, KANG SK ET AL. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in patients with minimal-change nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Nephron*, 1997; **77**: 471-473
28. AMOROSO A, DANEK G, VATTA S ET AL. Polymorphisms in angiotensin-converting enzyme gene and severity of renal disease in Henoch-Schoenlein patients. Italian Group of Renal Immunopathology. *Nephrol Dial Transplant*, 1998; **13**: 3184-3188
29. YOSHIOKA T, XU YX, YOSHIDA H ET AL. Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene predicts persistent proteinuria in Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Arch Dis Child*, 1998; **79**: 394-399
30. FERNANDEZ-LLAMA P, POCH E, ORIOLA J ET AL. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in essential hypertension and nephroangiosclerosis. *Kidney Int*, 1998; **53**: 1743-1747
31. MALLAMACI F, ZUCCALA A, ZOCCALI C ET AL. The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme is associated with nephroangiosclerosis. *Am J Hypertens*, 2000; **13** (4 Pt 1): 433-437
32. OZEN S, ALIKASIFOGLU M, SAATCI U ET AL. Implications of certain genetic polymorphisms in scarring in vesicoureteric reflux: importance of ACE polymorphism. *Am J Kidney Dis*, 1999; **34**:140-145
33. BROEKROELOFS J, STEGEMAN C A, NAVIS G ET AL. Risk factors for long-term renal survival after renal transplantation: a role for angiotensin-converting enzyme (insertion/deletion) polymorphism? *J Am Soc Nephrol*, 1998; **9**: 2075-2081.
34. VAN ESSEN GG, RENSMA P L, DE ZEEUW D ET AL. Association between angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. *Lancet*, 1996; **347**: 94-95.
35. VAN DER KLEIJ FG, NAVIS GJ, GANSEVOORT RT ET AL. ACE polymorphism does not determine short-term renal response to ACE-inhibition in proteinuric patients. *Nephrol Dialysis Transplant*, 1997; (12 Suppl 2): 42-46.
36. THE GISEN GROUP. Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet*, 1997; **349**: 1857-63.
37. GASPARI F, PERICO N, REMUZZI G. Application of newer clearance techniques for the determination of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1998; **7**: 675-80.
38. STAESSEN J A, GINOCCHIO G, WANG J G ET AL. Genetic variability in the renin-angiotensin system: prevalence of alleles and genotypes. *J Cardiovasc Risk*, 1997; **4**: 401-422.