

ORIGINAL

Polimorfismo rs5370 del gen de la endotelina-1 en el síndrome nefrótico primario: estudio de casos y controles



Hoda Rizk^a, Ayman Hammad^a, Afaf El-Said^b e Yahya Wahba^{a,*}

^a Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de El Mansura, El Mansura, Egipto

^b Sección de Bioquímica, Hospital Infantil Universitario de El Mansura, El Mansura, Egipto

Recibido el 25 de noviembre de 2019; aceptado el 15 de abril de 2020

Disponible en Internet el 13 de diciembre de 2020

PALABRAS CLAVE

Endotelina-1;
Hipertensión;
Síndrome nefrótico;
Respuesta a
corticoides

Resumen

Introducción: El síndrome nefrótico (SN) primario es una glomerulopatía común en la edad pediátrica. Se evaluaron los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en niños con SN primario.

Pacientes y métodos: Estudio de casos y controles realizado en el Hospital Infantil Universitario de El Mansura, Egipto, de diciembre de 2015 a enero de 2018. Se seleccionó a 50 pacientes con SN corticosensible (SNCS) y a 50 con SN corticorresistente (SNCR), así como a 100 controles sanos. Además de una evaluación clínica de los pacientes, se hicieron pruebas de cuantificación de albúmina, colesterol, creatinina y urea séricas y de proteinuria en muestra de orina de 24 h. Se emplearon técnicas de reacción en cadena de la polimerasa para analizar los genotipos (GG, GT y TT) y los alelos (T y G) del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en los grupos en estudio.

Resultados: El genotipo GT fue el más frecuente del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en el grupo de control (88%, $p=0,001$), mientras que el genotipo GG fue más frecuente en el grupo con SN que en el de control ($p=0,02$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de SN y de control en los alelos del polimorfismo rs5370 ($p=0,69$). El genotipo GG fue más prevalente en el grupo de SNCS que en los grupos de SNCR y de control ($p=0,03$). Las diferencias en las frecuencias alélicas entre los grupos de SNCR, SNCS y de control no fueron significativas ($p=0,89$). El genotipo GT se asoció a una presión arterial normal en niños con SN ($p=0,007$) mientras que el genotipo GG se asoció a hipertensión ($p<0,001$). No se detectaron diferencias significativas en la histopatología renal ni en los niveles séricos de colesterol respecto al genotipo.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: wahbayahya2007@mans.edu.eg, yahyawahba@ymail.com (Y. Wahba).

Conclusiones: El genotipo GG del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* podría asociarse a un riesgo mayor de desarrollar SN y a una respuesta más favorable al tratamiento con corticoides.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Endothelin-1;
Hypertension;
Nephrotic syndrome;
Steroid response

Endothelin-1 rs5370 gene polymorphism in primary nephrotic syndrome: A case-control study

Abstract

Introduction: Primary nephrotic syndrome (NS) is a common glomerular disease in children. We assessed the genotypes and frequency of the rs5370 allelic variant of the *EDN1* gene in children with primary NS.

Patients and methods: We conducted a case-control study in Mansoura University Children's Hospital, Egypt, between December 2015 and January 2018. We recruited 50 patients with steroid-sensitive NS (SSNS) and 50 patients with steroid-resistant NS (SRNS) in addition to 100 healthy controls. The patients underwent clinical evaluations and tests including measurement of serum albumin, cholesterol, creatinine and urea levels and a 24-hour urinary protein test. We used polymerase chain reaction methods to assess the genotypes of rs5370 variants of the *EDN1* gene (GG, GT and TT) and alleles (T and G) in the groups under study.

Results: The most frequent genotype of the *EDN1* gene at the locus of interest in the control group was the GT genotype (88%; $P = .001$) while the GG genotype was more frequent in the NS group compared to the control group ($P = .02$). We did not find statistically significant differences between the NS and control groups in regard to the *EDN1* rs5370 alleles ($P = .69$). The GG genotype was more frequent in the SSNS group compared to the SRNS and control groups ($P = .03$). When we compared allele frequencies between the control, SSNS and SRNS groups, we did not find significant differences ($P = .89$). The GT genotype was associated with normal blood pressure in children with NS ($P = .007$), while the GG genotype was associated with hypertension ($P < .001$). We did not find statistically significant differences in renal histopathology or serum cholesterol levels based on the genotype.

Conclusions: The GG genotype at the rs5370 locus of the *EDN1* gene may be associated with an increased risk of primary NS and a better response to steroid therapy.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El síndrome nefrótico (SN) primario es una glomerulopatía común en la edad pediátrica caracterizada por edema generalizado, proteinuria elevada, hipoalbuminemia e hiperlipidemia, con una incidencia estimada de 2-7 casos por cada 100.000 niños¹.

La endotelina-1 (ET-1) es un péptido compuesto de 21 aminoácidos con acción promotora del crecimiento y un potente efecto vasoconstrictor² codificada por el gen *EDN1* (6p24.1)^{3,4}. Hay datos convincentes de que la ET-1 desempeña un papel importante en la patogenia de la proteinuria y la glomerulosclerosis mediante la activación del receptor de la ET-1 tipo A, que produce estrés oxidativo y daña las células endoteliales adyacentes del glomérulo renal mediante un mecanismo paracrino que también causa un daño recíproco a los podocitos⁵.

Varios estudios han analizado la asociación entre el polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y la hipertensión, la presión arterial sistólica y el nivel de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad, aunque con resultados contradictorios⁶⁻¹¹.

Con relación a las nefropatías, las variantes del gen *EDN1* se han asociado con la progresión de la enfermedad renal poliquística autosómica dominante¹² y la nefropatía IgA¹³. Los estudios que analizan el impacto de los polimorfismos del gen *EDN1* en niños con SN son escasos¹⁴. El objetivo principal de nuestro estudio fue establecer los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en niños con SN primario. También se analizó la asociación entre las variantes de este polimorfismo de un solo nucleótido y la respuesta al tratamiento con corticoides, la presión arterial y los niveles de colesterol en estos pacientes.

Pacientes y métodos

Diseño y muestra de estudio

Estudio de casos y controles desarrollado en el Hospital Infantil Universitario de El Mansura, Egipto, entre diciembre de 2015 y enero de 2018. La muestra incluyó a 100 niños con SN primario (50 con SN corticosensible [SNCS] y 50 con SN

corticorresistente [SNCR]), y a 100 controles sanos. Los controles sanos se seleccionaron en el mismo hospital de entre los pacientes que presentaron problemas menores, como faringitis o gastroenteritis leve, normotensos, análisis de orina y pruebas de función renal normales y sin antecedentes de enfermedad renal. Todos los participantes pertenecían al mismo grupo étnico. El estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Institucional de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Mansura, Egipto (Número: MS/15.09.47) y se llevó a cabo de acuerdo con los principios éticos de la Declaración de Helsinki de 1964 y enmiendas posteriores. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los responsables legales de los casos y los controles.

Evaluación clínica y pruebas de laboratorio

En todos los pacientes se realizó evaluación clínica y se recogieron muestras de sangre y orina para determinación de albúmina, colesterol, creatinina y urea plasmáticas y proteinuria en muestra de 24 h. Todos los casos presentaron edema generalizado, albúmina plasmática < 2,5 g/dL, proteinuria ≥ 40 mg/m² por hora e hiperlipidemia¹⁵. Todos los participantes tenían un índice de masa corporal (IMC) entre los percentiles 10 y 75, y se tuvo en consideración que podría existir una interacción entre las variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y el IMC¹⁶. Se calculó el valor de la presión arterial obteniendo la media de 3 mediciones y se clasificó como normal hallarse por debajo del percentil 90, como prehipertensión en caso de hallarse entre los percentiles 90 y 95 y como hipertensión hallarse por encima del percentil 95 para la edad, el sexo y la talla¹⁷. Los datos sobre la histopatología renal se recogieron de las historias clínicas de los pacientes (65 casos).

El SNCS se definió como remisión completa a las 4 semanas de tratamiento con prednisona a una dosis de 60 mg/m² al día y el SNCR como la falta de remisión completa tras 4 semanas de dicho tratamiento. Se consideró que los pacientes se encontraban en remisión si no se detectó albúmina o si había solo trazas en 3 muestras consecutivas de la primera orina de la mañana¹⁸. Se excluyó a pacientes con SN congénito o secundario, enfermedad renal poliquística, obesidad o diabetes mellitus.

Genotipado de las variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1*

Se recogieron 3 ml de sangre venosa por participante, con jeringuillas de plástico y técnica aséptica. El ADN genómico se extrajo de muestras de sangre total de 200 μ L mediante adsorción en columnas (Generation DNA Purification capture column kits, Fermentas, EE. UU.). La detección de las variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con amplificación de alelos específicos (sistema de mutación refractario a la amplificación por PCR, o PCR-ARMS), empleándose los siguientes cebadores¹⁹:

Cebador genérico reverso: 5'-AGTCAGGAACCAGCAGAGGA-3'

Cebador específico de alelo G: 5'-ATCCGAAGCTGAAAGGCAAG-3'

Cebador específico de alelo T: 5'-ATCCGAAGCTGAAAGGCAAT-3'

Las mezclas para la PCR se prepararon en 2 tubos Eppendorf. A cada tubo se añadieron 3 μ L de ADN, 10 μ L de mezcla maestra Green PCR Master Mix (Fermentas) y 4 μ L de cebador genérico (10 pmol/ μ L). A continuación, se añadieron 3 μ L de cebador específico (alelo G o T, 10 pmol/ μ L). La secuencia del proceso de PCR comenzó con un paso de desnaturalización a 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C durante 60 s, 58 °C durante 45 s y 72 °C durante 45 s, y un último paso de extensión a 72 °C durante 5 min. Terminada la reacción, se aplicó una temperatura de conservación de 4 °C. Los productos de la PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 2,5%. Por último, se visualizaron los productos de la PCR con luz ultravioleta y bromuro de etidio. Se detectaron fragmentos del gen *EDN1* correspondientes a variantes del polimorfismo rs5370 de 184 pares de bases (pb), que se fotografiaron con una cámara digital.

Se clasificó a los pacientes como genotipo GT si se detectaban 2 bandas a la altura de 184 pb, una en la calle correspondiente al cebador del alelo T y otra en la calle del cebador de alelo G. Se clasificó a los pacientes como genotipo TT de visualizarse una sola banda a la altura de 184 pb en la calle del cebador T sin ninguna banda en la calle correspondiente al cebador G. Se clasificó a los pacientes como genotipo GG de visualizarse una sola banda a la altura de 184 pb en la calle del cebador G sin ninguna banda en la calle correspondiente al cebador T (figs. 1 y 2).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete SPSS versión 23. Se utilizó la prueba χ^2 para analizar el equilibrio Hardy-Weinberg en la distribución de los genotipos y las frecuencias alélicas del locus rs5370 del gen *EDN1* ($p > 0,05$ en todos los grupos). Las variables categóricas (expresadas como frecuencias absolutas y porcentajes) se compararon mediante la prueba exacta de Fisher y la prueba χ^2 . Para el análisis de normalidad de los datos continuos se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables no paramétricas se han resumido como mediana y rango (mínimo-máximo) y comparado por medio de la prueba de Kruskal-Wallis. La significación estadística se estableció en $p \leq 0,05$.

Resultados

Los pacientes en los distintos grupos se parearon por edad, sexo, ámbito de residencia (urbano/rural), percentil del IMC y valores de presión arterial (tabla 1). La distribución de los genotipos en el locus rs5370 del gen *EDN1* fue: GG 18%, GT 70% y TT 12% en el grupo de SN, y GG 7%, GT 88% y TT 5% en el grupo de control. Se observó que el genotipo GT fue el más frecuente en el grupo de control (88%; $p = 0,001$), mientras que el GG fue más frecuente en el grupo de SN que en el grupo de control ($p = 0,02$) (tabla 2).

El análisis de la frecuencia de los alelos G y T en el locus rs5370 del gen *EDN1* no mostró diferencias significativas entre los pacientes con SN y los controles ($p = 0,69$) (tabla 2). El análisis de regresión logística binaria reveló que el genotipo GG se asocia a un riesgo 3,23 veces mayor de desa-

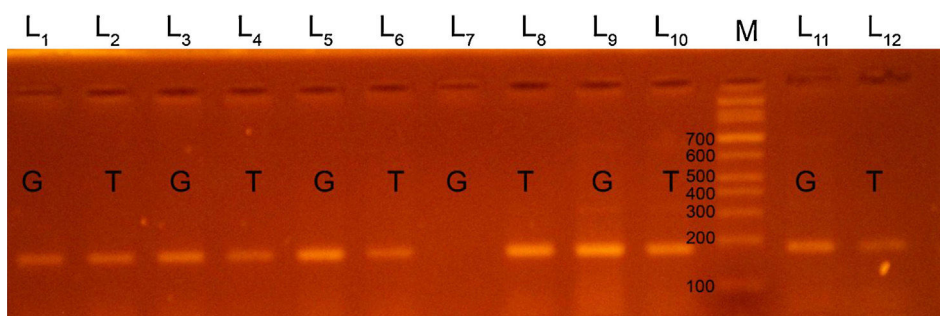


Figura 1 Productos de la amplificación del locus rs5370 del gen *EDN1* mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR-ARMS) con identificación de los genotipos GT (calles 1-6, 9-12) y TT (calles 7, 8); la calle M corresponde al marcador de peso molecular. L: calle.

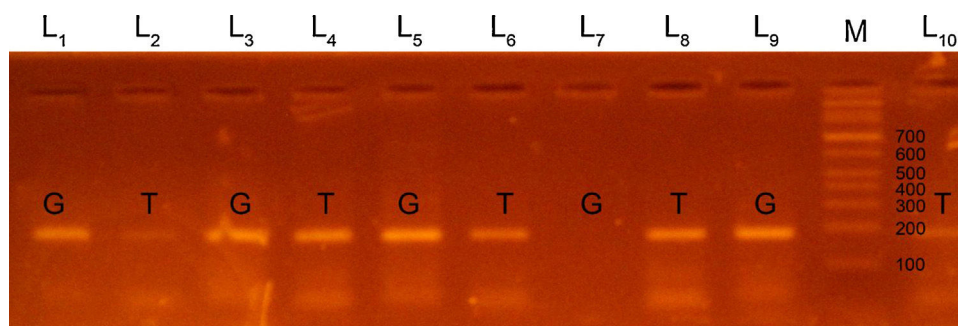


Figura 2 Productos de la amplificación del locus rs5370 del gen *EDN1* mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR-ARMS) con identificación de los genotipos GT (calles 3-6, 9, 10) y GG (calles 1, 2, 7, 8); la calle M corresponde al marcador de peso molecular. L: calle.

rollar SN que el genotipo GT (*odds ratio*: 3,23; intervalo de confianza del 95%: 1,28-8,2).

En cuanto a la respuesta al tratamiento con corticoides, observamos que el genotipo GG era más prevalente en el grupo de SNCS que en los grupos de SNCR y de control ($p=0,03$). No se encontraron diferencias significativas

en la distribución de frecuencias alélicas entre los grupos de control, de SNCS y de SNCR ($p=0,89$) (tabla 3).

El genotipo GT se asoció a una presión arterial normal en niños con SN ($p=0,007$), mientras que el genotipo GG se asoció a la hipertensión arterial ($p=0,001$). No se observaron diferencias significativas en los niveles de colesterol en

Tabla 1 Características clínicas de los niños con síndrome nefrótico primario y los controles

Características clínicas	SNCS (n = 50) n (%)	SNCR (n = 50) n (%)	Control (n = 100) n (%)	p
Edad en años mediana (rango)	8 (2,5-16)	7 (3-17)	6 (2-17)	0,62
Sexo				
Varón	27 (54)	20 (40)	39 (39)	0,22
Mujer	23 (46)	30 (60)	61 (61)	
Ámbito				
Rural	29 (58)	34 (68)	66 (66)	0,52
Urbano	21 (42)	16 (32)	34 (34)	
Percentil del índice de masa corporal				
P10-P25	4 (8)	6 (12)	16 (16)	0,5
P25- P50	19 (38)	18 (36)	42 (42)	
P50- P75	27 (54)	26 (52)	42 (42)	
Presión arterial				
Normal	40 (80)	36 (72)	100 (100)	0,57
Prehipertensión	6 (12)	7 (14)	0	
Hipertensión	4 (8)	7 (14)	0	

Datos expresados como frecuencias absolutas y porcentajes, salvo *mediana (mínimo-máximo).

SNCR: síndrome nefrótico corticorresistente; SNCS: síndrome nefrótico corticosensible.

Tabla 2 Distribución de los genotipos y los aleles del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en niños con síndrome nefrótico primario y controles

	Grupo SN (n = 100)n (%)	Grupo de control (n = 100)n (%)	p
<i>Genotipos (n)</i>			
GG	18 (18)	7 (7)	0,02
GT	70 (70)	88 (88)	0,001
TT	12 (12)	5 (5)	0,07
<i>Frecuencia alélica (2 n)</i>			
G	106 (53)	102 (51)	0,69
T	94 (47)	98 (49)	

EDN1: gen de la endotelina-1; SN: síndrome nefrótico.

Tabla 3 Distribución de los genotipos y los aleles del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en niños con síndrome nefrótico corticosensible), síndrome nefrótico corticorresistente y controles

	Grupo de SNCS (n = 50) n (%)	Grupo de SNCR (n = 50) n (%)	Grupo de control (n = 100) n (%)	p
<i>Genotipos (n)</i>				
GG	11 (22)	7 (14)	7 (7)	0,03
GT	32 (64)	38 (76)	88 (88)	0,002
TT	7 (14)	5 (10)	5 (5)	0,16
<i>Frecuencia alélica (2 n)</i>				
G	54 (54)	52 (52)	102 (51)	0,89
T	46 (46)	48 (48)	98 (49)	

EDN1: gen de la endotelina-1; SNCR, síndrome nefrótico corticorresistente; SNCS: síndrome nefrótico corticosensible.

sangre entre los subgrupos de pacientes con SN respecto a los genotipos estudiados ($p=0,068$) (tabla 4).

En cuanto a la histopatología renal (datos disponibles en 65/100 casos), no se encontraron diferencias significativas respecto al genotipo del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* (tabla 5).

Discusión

El SN primario es una nefropatía común en la edad pediátrica. Aunque se han publicado varios estudios centrados en el gen *EDN1* como posible locus de susceptibilidad a la enfermedad renal crónica en niños, se desconoce su papel exacto en el SN²⁰. Se realizó un estudio preliminar para evaluar el impacto del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en niños con

SN primario. El genotipo GG del locus rs5370 era más prevalente en niños con SN que en los controles y se asoció a un riesgo 3,23 veces mayor de SN. Esto indica que el genotipo GG podría desempeñar un papel importante en la patogenia del SN primario. Las mutaciones en el locus rs5370 del gen *EDN1* pueden dar lugar a una sustitución lisina→asparagina en el codón 198 (K198N), lo que resultaría en la inducción de la conversión de la preproendotelina, que afectaría a la síntesis de la ET-1²⁰ y finalmente produciría cambios estructurales en los podocitos²¹⁻²³. No obstante, esta hipótesis aún ha de confirmarse mediante el análisis de la correlación entre las variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y los niveles de ET-1 en estudios futuros. También son necesarios estudios del ARNm del *EDN1* para demostrar el impacto funcional de las variantes del polimorfismo rs5370.

Tabla 4 Distribución de genotipos del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* según la presión arterial y los niveles plasmáticos de colesterol en niños con síndrome nefrótico primario

	GG (n = 18)	GT (n = 70)	TT (n = 12)	p
<i>Presión arterial n (%)</i>				
Normal	9 (50)	59 (84,3)	8 (66,7)	0,007
Prehipertensión	2 (11,1)	8 (11,4)	3 (25)	0,4
Hipertensión	7 (38,9)	3 (4,3)	1 (8,3)	<0,001
<i>Nivel plasmático de colesterol en mg/dl mediana (rango)</i>				
	377,5 (234- 616)	431,5 (214- 686)	486,5 (230- 686)	0,068

Tabla 5 Distribución of genotipos del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* según la histopatología renal en 65 niños con síndrome nefrótico

Histopatología renal n (%)	GG (n = 11)	GT (n = 50)	TT (n = 4)	p
ECM (n = 51)	8 (15,7)	41 (80,4)	2 (3,9)	0,55
GSSF (n = 8)	1 (12,5)	6 (75)	1 (12,5)	0,69
MP (n = 6)	2 (33,3)	3 (50)	1 (16,7)	0,43

ECM: enfermedad de cambios mínimos; GSSF: glomeruloesclerosis segmentaria y focal; MP: membranoproliferativa.

Los resultados encontrados en la revisión bibliográfica fueron contradictorios. En China, Yang et al. reportaron una tendencia hacia la diferencia en los genotipos del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* entre 36 niños con SN primario y 94 controles ($p=0,057$)¹⁴. Sin embargo, un estudio más reciente realizado en Irán en 138 niños con SN y 150 controles no objetivó asociación entre las variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y el SN²⁴.

Las diferencias entre etnias y el tamaño muestral pueden afectar significativamente los resultados de los estudios, lo que subraya la necesidad de abordar estudios multicéntricos más amplios para elucidar el posible papel de los cambios en la secuencia del locus rs5370 en la patogenia del SN primario.

En el presente estudio se observaron diferencias significativas en la frecuencia de los genotipos GG y GT del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* entre los grupos de SNCS, de SNCR y de control. Esto indica una posible implicación de las variantes del polimorfismo rs5370 en la respuesta al tratamiento con corticoides en pacientes con SN. Esto es consistente con los hallazgos de Ezzat et al., quienes reportaron que la ET-1 y sus receptores están implicados en el efecto del tratamiento con glucocorticoides en distintos tipos de células humanas, incluyendo las del glomérulo renal²⁵. También es consistente con los hallazgos de Ahmed et al., cuyo estudio mostró una asociación entre niveles altos de ET-1 en sangre y una mala respuesta a los corticoides en niños con SN primario²⁶.

Nuestro estudio también señala una posible asociación entre el genotipo GG y la hipertensión, mientras que el genotipo GT sería más prevalente en niños con SN y normotensos. Es sabido que la ET-1 es un vasoconstrictor potente que puede afectar a la presión arterial²⁷. Los hallazgos de un estudio realizado por Funalot et al. no demostraron una asociación entre el genotipo del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y la presión arterial, pero indicaban que la interacción entre este polimorfismo y los genes que codifican la enzima convertidora de ET-1 pueden modular la presión arterial en mujeres²⁸. Wiltshire et al. estudiaron variantes del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* en 1.109 sujetos en el oeste de Australia y no encontraron una asociación significativa entre dichas variantes y la hipertensión arterial ($p=0,27$)¹⁰. No obstante, hay que tener presente que la patogenia de la hipertensión en el SN es multifactorial²⁹ y que son necesarios estudios adicionales más amplios que incluyan más variables en el análisis para establecer la asociación entre el polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y la hipertensión en niños con SN primario.

En nuestro estudio no se observó una asociación significativa entre los genotipos del rs5370 del gen *EDN1* y los niveles plasmáticos de colesterol, lo que concuerda con los hallaz-

gos de Wiltshire et al. y Hashemi et al.^{10,24}, aunque diverge de los de Pare et al. y Yang et al.^{11,14}. Tampoco se observó asociación entre el genotipo del polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* y la histopatología renal. Esta posible asociación no se ha explorado en la bibliografía publicada hasta la fecha, y se requieren más datos para confirmar nuestros resultados.

Conclusión

El genotipo GG en el polimorfismo rs5370 del gen *EDN1* se asoció a un riesgo mayor de SN primario en la infancia y a una respuesta más favorable a los corticoides. Se requieren estudios multicéntricos de mayor tamaño para validar los hallazgos del presente estudio.

Limitaciones del estudio

Estudio unicéntrico en muestra pequeña. No se analizó la asociación con los niveles séricos de ET-1.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*. 2003;362:629–39.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332:411–5.
- Bloch KD, Friedrich SP, Lee ME, Eddy RL, Shows TB, Quertermous T. Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin. *J Biol Chem*. 1989;264:10851–7.
- Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, et al. The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci*. 1989;86:2863–7.
- Daehn I, Casalena G, Zhang T, Shi S, Fenninger F, Barasch N, et al. Endothelial mitochondrial oxidative stress determines podocyte depletion in segmental glomerulosclerosis. *J Clin Invest*. 2014;124:1608–21.
- Barden AE, Herbison CE, Beilin LJ, Michael CA, Walters BN, van Bockxmeer FM. Association between the endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism blood pressure and plasma endothelin-1 levels in normal and pre-eclamptic pregnancy. *J Hypertens*. 2001;19:1775–82.
- Asai T, Ohkubo T, Katsuya T, Higaki J, Fu Y, Fukuda M, et al. Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects: The Ohasama Study. *Hypertension*. 2001;38:1321–4.

8. Treiber FA, Barbeau P, Harshfield G, Kang HS, Pollock DM, Pollock JS, et al. Endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism and blood pressure reactivity. *Hypertension*. 2003;42:494–9.
9. Tanaka C, Kamide K, Takiuchi S, Kawano Y, Miyata T. Evaluation of the Lys198Asn and-134delA genetic polymorphisms of the endothelin-1 gene. *Hypertens Res*. 2004;27:367–71.
10. Wiltshire S, Powell BL, Jennens M, McCaskie PA, Carter KW, Palmer LJ, et al. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Hum Genet*. 2008;123:307–13.
11. Pare G, Serre D, Brisson D, Anand SS, Montpetit A, Tremblay G, et al. Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-1 and high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet*. 2007;80:673–82.
12. Reiterová J, Merta M, Stekrová J, Tesar V, Kmentová D, Rihová Z, et al. The influence of the endothelin-converting enzyme-1 gene polymorphism on the progression of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Ren Fail*. 2006;28:21–4.
13. Maixnerova D, Merta M, Reiterová J, Stekrová J, Rysavá R, Obeidová H, et al. The influence of three endothelin-1 polymorphisms on the progression of IgA nephropathy. *Folia Biol (Praha)*. 2007;53:27–32.
14. Yang F, Lai X, Deng L, Liu X, Li J, Zeng S, et al. Association of endothelin-1 gene polymorphisms with the clinical phenotype in primary nephrotic syndrome of children. *Life Sci*. 2014;118:446–50.
15. Gipson DS, Massengill SF, Yao L, Nagaraj S, Smoyer WE, Mahan JD, et al. Management of childhood onset nephrotic syndrome. *Pediatrics*. 2009;124:747–57.
16. Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, et al. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension*. 2003;41:163–7.
17. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics*. 2004;114:555–76.
18. Bagga A. Revised guidelines for management of steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Indian J Nephrol*. 2008;18:31–9.
19. Gormley K, Bevan S, Hassan A, Markus HS. Polymorphisms in genes of the endothelin system and cerebral small-vessel disease. *Stroke*. 2005;36:1656–60.
20. Pinto-Sietsma SJ, Herrmann SM, Schmidt-Petersen K, Niu T, Hillege HL, Janssen WM, et al. Role of the endothelin-1 gene locus for renal impairment in the general nondiabetic population. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:2596–602.
21. Barton M, Tharoux PL. Endothelin and the podocyte. *Clin Kidney J*. 2012;5:17–27.
22. Dhaun N, Webb DJ, Kluth DC. Endothelin-1 and the kidney-beyond BP. *Br J Pharmacol*. 2012;167:720–31.
23. Lenoir O, Milon M, Virsolvy A, Hénique C, Schmitt A, Massé JM, et al. Direct action of endothelin-1 on podocytes promotes diabetic glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25:1050–62.
24. Hashemi M, Sadeghi-Bojd S, Aryanezhad S, Rezaei M. Association of endothelin-1 rs5370 G > T gene polymorphism with the risk of nephrotic syndrome in children. *J Nephropathol*. 2017;6:138–43.
25. Ezzat GM, Ali AB, Mohamed NA, Hetta HF. Association of endothelin receptor type A rs5333 gene polymorphism with steroid response in Egyptian children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pharmacogenomics*. 2019;20:133–41.
26. Ahmed HM, Morgan DS, Doudar NA, Naguib MS. High serum endothelin-1 level is associated with poor response to steroid therapy in childhood-onset nephrotic syndrome. *Saudi J Kidney Dis Transplant*. 2019;30:769–74.
27. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: Therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation*. 2000;102:2434–40.
28. Funalot B, Courbon D, Brousseau T, Poirier O, Berr C, Cambien F, et al. Genes encoding endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 interact to influence blood pressure in women: The EVA study. *J Hypertens*. 2004;22:739–43.
29. Shatat IF, Becton LJ, Woroniecki RP. Hypertension in childhood nephrotic syndrome. *Front Pediatr*. 2019;7:287.