



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

Facultad de Ciencias Biológicas

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Programa de Doctorado en Bioquímica y Biomedicina

---

IDENTIFICACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS  
CON EL DESARROLLO DE LA MICROALBUMINURIA EN LA  
HIPERTENSIÓN ESENCIAL

---

Tesis Doctoral presentada por:

**Pilar Rentero Garrido**

Para la obtención del grado de

**Doctora por la Universitat de València**

Dirigida por:

**Dr. D. F. Javier Chaves Martínez y**

**Dr. D. Josep Redón i Mas.**

**VALENCIA, MAYO 2017**



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DOCTORADO EN BIOQUÍMICA Y BIOMEDICINA

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

FUNDACIÓN INVESTIGACIÓN CLÍNICO DE VALENCIA-INCLIVA

Unidad de Genómica y Diagnóstico Genético

---

IDENTIFICACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS  
CON EL DESARROLLO DE LA MICROALBUMINURIA EN LA  
HIPERTENSIÓN ESENCIAL

---

Tesis Doctoral presentada por:

**Pilar Rentero Garrido**

Dirigida por:

**Dr. D. F. Javier Chaves Martínez y**

**Dr. D. Josep Redón i Mas.**

**VALENCIA, MAYO 2017**





VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

**INCLIVA | VLC**  
Instituto de Investigación Sanitaria

D. FELIPE JAVIER CHAVES MARTÍNEZ, doctor en Ciencias Biológicas, licenciado en Biología y especialista en Genética, y D. JOSEP REDÓN I MAS, catedrático de medicina de la Universitat de València.

INFORMAN:

Que Dña. PILAR RENTERO GARRIDO, Licenciada en Ciencias Biológicas y Licenciada en Bioquímica por la Universitat de València, ha realizado bajo su dirección en la Fundación de Investigación Clínico de Valencia-INCLIVA, en la Unidad de Genómica y Diagnóstico Genético, el trabajo experimental conducente a la elaboración de la presente memoria de investigación destinada a Tesis Doctoral, que se presenta bajo el título de: **IDENTIFICACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE LA MICROALBUMINURIA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL.**

Y para que conste donde proceda, firman la presente en Valencia, 23 de mayo de 2017.

Firma de codirector de la tesis  
Dr. F. Javier Chaves Martínez

Firma de codirector de la tesis  
Dr. Josep Redón i Mas



Este trabajo de tesis doctoral ha sido financiado por los siguientes proyectos:

- *Interaction Of Genetic And Acquired Factors On The Risk To Develop Microalbuminuria In Essential Hypertension: A Genomic And Metabolomic Approach* (PS09/02014) Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias, cuyo investigador principal es el **Dr. Josep Redón i Mas**.
- Identificación De Variantes Genéticas En El Exoma Asociadas Con DM2 (PI11/00726), Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias, cuyo investigador principal es el **Dr. F. Javier Chaves Martínez**.
- *Understanding Obesity (Ob), Metabolic Syndrome (Mets), Type 2 Diabetes (T2dm) And Fatty Liver Disease (Fl): A Multidisciplinary Approach* (PIE14/00031), Instituto de Salud Carlos III, Proyecto InterCIBER, cuyo investigador principal es el **Dr. José María Mato De La Paz**
- Identificación De Variaciones De Secuencia Y De Metilación E Hidroximetilación En El Exoma Asociadas Al Desarrollo De Diabetes Tipo 2 (PI14/00874), Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias, cuyo investigador principal es el **Dr. F. Javier Chaves Martínez**.

Dña. **Pilar Rentero Garrido**, ha recibido una ayuda predoctoral de formación en investigación del Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias (FI10/00079).





*“En algún lugar, algo increíble está esperando ser conocido”.*

*Carl Sagan*



A mi abuela y mis yayos  
Allá donde estéis.



## ***Agradecimientos***

*Son tantas las personas a recordar y a agradecer su apoyo que no sé por dónde empezar...*

*Cómo no comenzar a agradecer a mi familia, a mi madre Pilar y a mi padre Andrés todos los esfuerzos y sacrificios hechos en pos de mi educación, para brindarme la oportunidad de crecer no sólo profesionalmente sino también como persona. Agradeceros vuestro amor y apoyo a lo largo de toda mi vida y hacer posible que llegue este momento. A mi hermano Andrés, si para ti también hay, gracias por ser como eres, por tu frescura y tu optimismo y a ti Eva por hacerle mejor persona si cabe.*

*Agradecer a mis directores, Javier Chaves y Josep Redón, la oportunidad que me dieron, hace hoy 8 años, de iniciar este camino. Javier, gracias y mil gracias por esta oportunidad, por creer en mí todos estos años y permitirme formar parte de la gran familia que somos.*

*Familia... la familia no sólo son nuestros padres, madres o hermanos, familia son esas personas que comparten tu vida y te apoyan sin condición y yo soy muy afortunada de tener más de una. Gracias a mis Genotipazos: Victoria y Cristina gracias por ser como sois, por vuestra paciencia conmigo al llegar y por enseñarme todo cuando no sabía nada; Tani, sensei, maestro que todo lo sabe, gracias por todos esos conocimientos transmitidos; Kike y Griselda, compañeros de penurias en las tesis, ¡Animo! ¡Que ya lo tenemos!; mis chicas de endocrino, Laura y Vero sois estupendas, mil gracias por todo lo que hacéis no sólo por mí, si no por todos y que tan pocas veces os agradecemos; a los podocitos Javi y Reichel, también a vosotras Loles y Ana, aunque lleváis menos tiempo sois indispensables; Ana Bárbara y Pablo por vuestro apoyo en los momentos duros, por ayudarme durante la escritura y los análisis, por las horas invertidas conmigo. A los que ya no estáis en el laboratorio pero que siempre seréis Genotipazos, M<sup>a</sup> Luisa, Verónica, Alba, Vanessa e Inma, a ti Inma muchas*

*gracias por toda tu labor en la parte del procesado de las muestras de la primera fase de este trabajo. Azahara y Dani, ¿qué habría sido de mi bioinformática sin vosotros? Gracias por vuestra ayuda.*

*Agradecer también a la Unidad de Bioinformática del IIS Incliva, Miguel y Alex, por el soporte que me habéis dado, por salvar a mi ordenador en momentos de crisis y por vuestro buen ánimo frente a todo.*

*No Verónica, no me he olvidado de ti, mil gracias por tu apoyo incondicional, por esos viajes, por toda tu ayuda en la redacción de esta tesis, que haría yo sin mi pequeña maniática del orden y del control, sabes que te quiero muchísimo y que sin ti este último mes habría sido insostenible. No cambies nunca, sigue tan dispuesta y adorable siempre, sabes que me tendrás para lo que necesites.*

*Los que me conocéis sabéis que no soy una persona cariñosa, que las relaciones sociales puede que no sean mi fuerte, por eso me sorprende que me aguantes tanto, que sigas a mi lado después de tantos años, que me apoyes no importa en qué y que ni el tiempo ni el espacio haya cambiado la relación que hay entre las dos. Muchísimas gracias por estar en mi vida M<sup>a</sup>José.*

*Y cómo no a ti, mi marido, mi compañero, por tu paciencia, por tus ánimos, por ser como eres, por hacerme como soy, porque siempre estás ahí y me soportas cuando las cosas se ponen difíciles. Cómo expresar mi agradecimiento en palabras...Simplemente: “Lo sé”.*

# Índice

Resumen .....	VII
Introducción.....	1
1 Hipertensión Esencial.....	3
1.1 Definición y clasificación .....	3
1.2 Prevalencia .....	7
1.3 Diagnóstico .....	8
1.4 Consecuencias.....	9
2 Microalbuminuria .....	11
2.1 Definición y clasificación .....	11
2.2 Prevalencia .....	13
2.3 Diagnóstico .....	14
3 La Microalbuminuria en la Hipertensión.....	16
4 Genética de la Microalbuminuria en la Hipertensión. ....	19
4.1 Estudios de Genes Candidatos .....	20
4.1.1 Sistema renina-angiotensina-aldosterona .....	20
4.1.2 Sistema Adrenérgico.....	23
4.1.3 Estrés Oxidativo .....	25
4.2 GWAS .....	27
4.3 Análisis de ligamiento .....	30
Hipótesis y Objetivos .....	31
Metodología.....	37
5 Estudio en Población Hipertensa.....	39
5.1 Diseño del Estudio.....	39
5.1.1 Selección de la Población de Estudio.....	39
5.1.2 Selección de Variantes Genéticas de Estudio .....	40
5.2 Metodología de genotipado: Illumina® GoldenGate® Genotyping Assay.....	42
5.2.1 Activación del ADN mediante la adición de biotina.....	43
5.2.2 Combinación con cebadores específicos. ....	44
5.2.3 Extensión y ligación de cebadores.....	44
5.2.4 Amplificación del producto de ligación. ....	45
5.2.5 Purificación del producto de PCR. ....	46

---

5.2.6	Hibridación de los chips. ....	47
5.2.7	Lavado de los chips. ....	49
5.2.8	Escaneado de chips. ....	50
5.3	Controles de calidad y asignación de genotipos ....	52
5.3.1	Control de hibridación secundaria.....	52
5.3.2	Control de la Extensión del Alelo Específico .....	53
5.3.3	Control de Uniformidad de PCR.....	54
5.3.4	Control de Hibridación primaria .....	54
5.3.5	Control de Extensión .....	55
6	Estudio de Validación en Población General: Estudio Di@bet.es.....	56
6.1	Diseño del Estudio.....	56
6.1.1	Selección de la Población de Estudio.....	56
6.1.2	Selección de Variantes de Estudio y Diseño de Cebadores.....	58
6.2	Metodología de Genotipado: Secuenciación mediante NGS .....	61
6.2.1	Amplificación de las regiones de interés .....	61
6.2.2	Incorporación de Barcodes .....	63
6.2.3	Mezcla de muestras, purificación y cuantificación .....	64
6.2.4	Preparación de la librería .....	65
6.2.5	Secuenciación. ....	66
6.3	Análisis Bioinformático .....	68
6.3.1	Demultiplexado.....	69
6.3.2	Control de calidad.....	69
6.3.3	Trimming .....	71
6.3.4	Mapeo .....	71
6.3.5	Coberturas .....	72
6.3.6	Llamado de variantes .....	73
7	Análisis Estadístico de los Datos .....	75
7.1.1	Estadística General .....	75
7.1.2	Estudios de Asociación de Polimorfismos .....	75
7.1.3	Estudio de Desequilibrio de Ligamiento y Asociación Haplotípica .....	77
	Resultados.....	79
8	Estudio en Población Hipertensa.....	81
8.1	Características generales de la población.....	81



---

8.2	Controles de calidad y asignación de genotipos .....	83
8.2.1	Control de hibridación secundaria.....	83
8.2.2	Control de Extensión Alelo Específica .....	84
8.2.3	Control de Uniformidad de PCR.....	86
8.2.4	Control de hibridación primaria.....	87
8.2.5	Control de Extensión .....	88
8.2.6	Asignación de genotipos .....	90
8.3	Estudio de asociaciones en Población Hipertensa .....	91
8.3.1	Filtrado de los datos .....	91
8.3.2	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y valores de EUA en Población Hipertensa .....	91
9	Estudio de Validación en Población General: Estudio Di@bet.es. ....	96
9.1	Características de la población.....	96
9.2	Análisis Bioinformático de las Secuencias.....	98
9.2.1	Control de calidad.....	98
9.2.2	Trimming .....	101
9.2.3	Coberturas .....	102
9.2.4	Llamado de variantes .....	103
9.3	Estudio de Asociación en Población General.....	104
9.3.1	Filtrado de datos.....	104
9.3.2	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y variables relacionadas en Población General. ....	104
9.3.3	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de ERC y valores de eGFR en Población General. ....	108
9.3.4	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de HTAe y valores de PA en Población General. ....	110
9.4	Estudio de Asociación en Subpoblación Hipertensa .....	113
9.4.1	Características de la población .....	113
9.4.2	Filtrado de datos.....	113
9.4.3	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y valores de EUA en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es .....	114
9.4.4	Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de ERC y valores de eGFR en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es. ....	117
9.4.5	Asociación de marcadores genéticos con los valores de PA en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es.....	119

---

10	Comparación de Poblaciones Hipertensas.....	121
10.1.1	Características de las poblaciones .....	121
10.1.2	Filtrado de datos .....	122
10.1.3	Comparación de Asociaciones.....	122
11	Resumen de Resultados .....	127
	Discusión .....	131
12	Discusión .....	133
12.1	Discusión de la Metodología .....	133
12.1.1	Diseño del estudio.....	133
12.1.2	Discusión de la selección de Variantes .....	135
12.1.3	Discusión de la metodología empleada .....	135
12.2	Discusión de los Resultados .....	139
12.2.1	Población Hipertensa.....	139
12.2.2	Estudio Di@bet.es.....	141
12.2.3	Comparación Poblaciones Hipertensas .....	148
12.3	Limitaciones.....	150
12.4	Perspectivas de futuro .....	151
	Conclusiones .....	153
	Bibliografía .....	159
	Anexo .....	179
	Anexo 1 .....	181
	Anexo 2 .....	203
	Anexo 3 .....	213
	Anexo 4 .....	219
	Anexo 5 .....	227

**Abreviaturas**

ACR,	Ratio albúmina/creatinina
ADAM23,	
ADM,	Adrenomedulina
ADN,	Ácido desoxirribonucleico
ADNg,	Ácido desoxirribonucleico genómico
ADRB <sub>2</sub> ,	Receptor beta adrenérgico tipo 2
AGT,	Angiotensinógeno
ALB,	Albúmina
AMPc,	Adenosín Monofosfato
ASO,	Oligonucleótido específico de alelo
ATR1,	Receptor tipo 1 de la angiotensina
CAT,	Catalasa
CT,	Colesterol total
CYP11B2,	Aldosterona sintetasa
CXCL12,	C-X-C motif chemokine ligand 12
DM2,	Diabetes mellitus tipo 2
dNTP,	Dinucleótidos trifosfatos
DO,	Daño orgánico
ECA,	Enzima convertidora del angiotensinógeno
ECV,	Enfermedad cardiovascular
EDTA,	Ácido etilendiaminetetraacético
eGFR	Ratio de filtrado Glomerular estimado
eNOS,	Óxido nítrico sintetasa endotelial
ERC,	Enfermedad renal crónica
ERO,	Especies reactivas de oxígeno
EUA,	Excreción urinaria de albúmina
FR,	Factores de riesgo
g, mg, µg, ng, Kg,	Gramo, miligramo, microgramo, nanogramo, kilogramo
GPX1,	Glutación peroxidasa 1
GWAS,	Estudios de asociación de genoma completo
HPLC,	Cromatografía líquida de alta definición
HTAe,	Hipertensión arterial esencial
HWE,	Equilibrio Hardy-Weinberg
IMC,	Índice de masa corporal
INE,	Instituto Nacional de Estadística
KSR2,	Kinase suppressor of ras 2
LD,	Desequilibrio de ligamiento
LogEUA,	Logaritmo de la excreción urinaria de albúmina
M, mM, µM,	Molar, milimolar, micromolar
MAF,	Frecuencia del alelo minoritario
mALB,	Microalbuminuria

---

Min.,	Minutos
MSR1,	Macrophage scavenger receptor 1
N,	Concentración normal
OR,	Odds ratio
PA,	Presión Arterial
PAD,	Presión arterial diastólica
PAS,	Presión arterial sistólica
PCDH9,	Protocadherin 9
Pb,	Par de bases
PCR,	Reacción en cadena de la polimerasa
r.p.m.,	Revoluciones por minuto
RAAS,	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SD,	Desviación estándar
SE,	Error estándar
seg.,	Segundos
SNP,	Polimorfismo de un solo nucleótido
SOD2,	Superóxido dismutasa 2
SOD3,	Superóxido dismutasa 3
TBE,	Tris/EDTA/Borato
TE,	Tris/EDTA
Tris,	Tris (hidroximetil) aminometano
U,	Unidad
UTR,	Región no traducida
WTCCC,	Wellcome Trust Case Control Consortium
XO,	Xantina oxidoreductasa

# Resumen/Abstract

---

---

---

---

# IDENTIFICACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE LA MICROALBUMINURIA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL

La excreción urinaria de albúmina es uno de los marcadores de riesgo más utilizados en el estudio del desarrollo de la enfermedad cardiovascular. El incremento de los valores de EUA está provocado por el aumento de la filtración glomerular a nivel del túbulo proximal, la cual puede estar producida por un aumento sistemático de la presión arterial. Tradicionalmente se ha venido estudiando la presencia de microalbuminuria en relación a otros factores de riesgo cardiovascular como son la diabetes mellitus y la hipertensión, debido a la relevancia de estas patologías en el desarrollo de daño orgánico. Existen múltiples estudios que buscan establecer una base genética en el incremento de los valores de excreción urinaria de albúmina asociado a la hipertensión esencial.

**Hipótesis y Objetivos:** Existe una base genética de rasgos complejos en el incremento de los niveles de excreción urinaria de albúmina asociados en la hipertensión.

Nuestro grupo ha realizado un GWAS en población hipertensa con el objetivo de identificar una serie de marcadores involucrados en el incremento de la excreción urinaria de albúmina. Nuestro objetivo actual es verificar las asociaciones encontradas, así como otras asociaciones descritas para otras poblaciones.

**Materiales y Métodos:** Se llevó a cabo el genotipado de 1.536 SNPs, procedentes del GWAS realizado previamente por nuestro grupo, en una nueva población hipertensa de 910 individuos utilizando la tecnología Infinium GoldenGate Genotyping Assay de Illumina, a partir de los resultados obtenidos, se validaron mediante secuenciación NGS en la población del Estudio Di@bet.es (n = 4.785) los 20 SNPs más significativos en su asociación con las variables relacionadas con la excreción urinaria de albúmina. Para el estudio de secuenciación se utilizó la tecnología *paired-end* 150x2 de Illumina.

---

**Resultados:** Los análisis realizados dieron como resultado la asociación de varios loci con las variables relacionadas con la excreción urinaria de albúmina en la población general: rs6972824 (p.valor 0.015) y rs2820950 (p.valor 0.016). También se obtuvieron resultados para la asociación con la enfermedad renal crónica de los polimorfismos rs13232567 (p.valor  $1.03e-3$ ) y rs12322500 (p.valor 0.037).

Así mismo se realizaron los análisis en la población hipertensa en la cual se asoció con los valores de excreción urinaria de albúmina, cuantitativa o cualitativamente los polimorfismos rs3114316 (p.valor  $7.35e-3$ ), rs3114316 (p.valor 0.031), rs6972824 (p.valor 0.014) y rs9950398 (p.valor 0.030), asociándose también con los valores de presión arterial.

**Conclusiones:** Según nuestros estudios, diferentes marcadores genéticos se asocian con los valores de excreción urinaria de albúmina, además algunos de ellos se han asociado a su vez con los valores de presión arterial. Estos resultados ponen de manifiesto la relación genética entre los valores de excreción urinaria de albúmina y presión arterial.



# IDENTIFICATION OF GENETIC FACTORS ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF MICROALBUMINURIA IN ESSENTIAL HYPERTENSION

Urinary albumin excretion is one of the most commonly used risk markers in the development of cardiovascular disease. High urinary albumin excretion values are caused by an increase of the glomerular filtration at the proximal tubule, which may be caused by a systematic increase in blood pressure. The presence of microalbuminuria has traditionally been studied in relation to other cardiovascular risk factors such as diabetes mellitus and hypertension, due to the relevance of these pathologies in the development of organic damage. There are multiple studies that seek to establish a genetic basis in the increase of urinary albumin excretion values associated with hypertension.

**Hypothesis and Objectives:** There is a genetic basis of complex traits in increasing urinary albumin excretion levels associated with hypertension.

Our group has performed a GWAS in a hypertensive population with the goal of identifying different markers involved in the increase of the urinary albumin excretion. Our current objective is to verify the associations found previously, as well as other associations described for other populations.

**Materials and Methods:** Genotyping of 1,536 SNPs from the GWAS previously performed by our group was carried out in a hypertensive population of 910 individuals using the Infinium GoldenGate Genotyping Assay technology from Illumina. From the results obtained, we validated by NGS sequencing in the population of the Di@bet.es Study (n = 4,785) the 20 most significant SNPs in their association with urinary albumin excretion-related variables. For the sequencing study, the technology was NGS paired-end 150x2 from Illumina.

**Results:** The analysis performed resulted in the association of several loci with urinary albumin excretion -related variables in the general population: rs6972824 (p.value 0.015) and rs2820950 (p.value 0.016). Results were also obtained for the association between

---

chronic kidney disease and rs13232567 (p.value 1.03e-3) and rs12322500 (p.value 0.037) polymorphisms.

We also performed analysis in the hypertensive population of Di@bet.es Study in which we observed association between the urinary albumin excretion levels, as a quantitative or qualitative trait, and the polymorphisms rs3114316 (p.value 7.35e-3), rs3114316 (p.value 0.031), rs6972824 (p.value) 0.014) and rs9950398 (p.value 0.030). These SNPs were also associated with blood pressure values.

**Conclusions:** According to our studies, different genetic markers are associated with urinary albumin excretion values, in addition, some of them have been associated with blood pressure values. These results highlight the genetic basis of the relationship between urinary albumin excretion and blood pressure levels.

# Introducción

---



# 1 Hipertensión Esencial

## 1.1 Definición y clasificación

En la actualidad, la hipertensión esencial (HTAe) se define como una alteración del sistema cardiovascular, caracterizándose por la presencia mantenida de cifras de presión arterial sistólica (PAS) iguales o superiores a 140 mm Hg o presión arterial diastólica (PAD) igual o superior a 90 mm Hg, o ambas, sin una causa conocida. Estas cifras, suponen que existe un elevado riesgo cardiovascular, sin embargo, presentar valores por debajo de estos límites no supone que el riesgo desaparezca completamente (1). Por su parte, la presión arterial (PA) está determinada tanto por la cantidad de sangre bombeada por la acción del corazón, como por el tamaño y el estado de las arterias.

En la última revisión de la Guía para el manejo de la HTAe (año 2013), las sociedades europeas de hipertensión y de cardiología, presentaron la clasificación de la HTAe en función de los valores de PA (**Tabla 1**). Esta clasificación se viene manteniendo tras las últimas revisiones (años 2003 y 2007) y es aplicable tanto en jóvenes como en adultos, precisándose diferentes criterios si hablamos de niños y adolescentes (2).

Tabla 1. Definiciones y clasificación de la HTAe en función de los valores de PA

Categoría	Sistólica		Diastólica
Óptima	<120	y	<80
Normal	120 - 129	y/o	80 - 84
Normal – Alta	130 - 139	y/o	85 – 89
Hipertensión grado 1	140 - 159	y/o	90 – 99
Hipertensión grado 2	160 - 179	y/o	100 -109
Hipertensión grado 3	≥180	y/o	≥110
Hipertensión sistólica aislada	≥140	y	<90

La hipertensión sistólica aislada debe clasificarse en grados (1, 2, 3) según cifras de presión arterial sistólica en los rangos indicados, siempre que las cifras de diastólica sean < 90 mmHg. Los grados 1, 2 y 3 se corresponden con la clasificación en hipertensión ligera, moderada y grave.

---

Establecidas las distintas combinaciones que pueden dar lugar a un diagnóstico de HTA, es necesaria una evaluación individualizada de los pacientes, así como varias mediciones de la presión arterial para poder dar un diagnóstico fiable. Además, debemos distinguir entre la hipertensión esencial o primaria de la hipertensión secundaria, la cual es producida por una causa conocida.

La estimación del riesgo cardiovascular es sencilla si nos centramos en subgrupos de pacientes bien caracterizados. Sin embargo, cuando seleccionamos una población más amplia y heterogénea, esta estimación se vuelve más compleja y requiere el empleo de diferentes modelos de aproximación como son:

- La Ecuación ERICE (3): centrada en la población mediterránea, la cual asume como factores de riesgo (FR) a tener en cuenta la edad, el género, el lugar de residencia, el índice de masa corporal (IMC), la PAS, la PAD, el número de cigarrillos consumidos, el colesterol total (CT) en suero, los valores de glucemia, antecedentes de HTA, hipercolesterolemia y diabetes mellitus (DM), así como el tratamiento farmacológico para estas tres patologías nombradas.
- El Perfil de Riesgo Cardiovascular: Desarrollado a partir de estudios como el *Framingham Heart Study* (4), que incluye como factores de riesgo la edad, los valores de CT, los de HDL, PAS, tabaquismo, tratamiento antihipertensivo, DM e incidentes cardiovasculares previos.
- El Proyecto SCORE (5): el cual estima el riesgo de morir por una enfermedad cardiovascular en los siguientes 10 años, basándose en la edad, el género, el tabaco, los valores de CT y los valores de PAS. Este modelo permite la calibración en función del país que se quiera analizar.

Durante más de una década, las guías internacionales para el manejo de la hipertensión diseñadas por las sociedades internacionales de hipertensión y cardiología han estratificado el riesgo cardiovascular en diferentes categorías como son: los valores de PA, presencia de factores de riesgo o la presencia/ausencia de daño orgánico (DO),

presencia de DM, ECV sintomática o enfermedad renal crónica (ERC), tal y como muestra la **Tabla 2** (6).

*Tabla 2. Categorías para la estratificación del riesgo cardiovascular.*

Otros FR, DO asintomático o enfermedad	Presión arterial (mmHg)			
	Normal alta PAS 130-139 o PAD 85-89	Grado 1 de HTA PAS 140-159 o PAD 90-99	Grado 2 de HTA PAS 160-179 o PAD 100-109	Grado 3 de HTA PAS $\geq$ 180 o PAD $\geq$ 110
Ausencia de otros FR		Riesgo bajo	Riesgo moderado	Riesgo alto
1-2 factores de riesgo	Riesgo bajo	Riesgo moderado	Riesgo de moderado a alto	Riesgo alto
$\geq$ 3 factores de riesgo	Riesgo de bajo a moderado	Riesgo de moderado a alto	Riesgo alto	Riesgo alto
DO, ERC estado 3 o DM	Riesgo de moderado a alto	Riesgo alto	Riesgo alto	Riesgo de alto a muy alto
ECV, ERC estado $\geq$ 4 o DM con DO o FR	Riesgo muy alto	Riesgo muy alto	Riesgo muy alto	Riesgo muy alto

FR: Factores de riesgo; HTA: hipertensión arterial; DO: daño orgánico; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; ERC: enfermedad cardiovascular; ERC: enfermedad renal crónica

Los FR empleados para llevar a cabo la estratificación de la **Tabla 2** se resumen según indica la **Tabla 3**.

Tabla 3. Factores de riesgo relacionados con la HTA.

FACTORES DE RIESGO	DAÑO ORGÁNICO SUBCLÍNICO
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cifras de presión arterial (PA) sistólica y diastólica.</li> <li>- Presión de pulso (en el anciano)</li>   <li>- Edad (V &gt;55, M &gt;65 años)</li>   <li>- Tabaquismo</li>   <li>- Dislipemias:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Colesterol total &gt; 190 mg/dl</li> <li>- LDL-Colesterol &gt;115 mg/dl</li> <li>- HDL-Colesterol &lt; 46 mg/dl</li> <li>- Triglicéridos &gt; 150 mg/dl</li> </ul> </li> <li>- Glucemia basal alterada: 102 - 125 mg/dl</li> <li>- Test de tolerancia oral a la glucosa alterado</li> <li>- Obesidad abdominal: Perímetro cintura (V &gt;102cm, M &gt;88cm)</li>   <li>- Historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz (V &gt;55, M &gt;65 años)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipertrofia ventricular izquierda:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- ECG: Sokolow-Lion &gt; 38mm;</li> <li>Cornell &gt; 2440 mm*ms</li> <li>- Ecografía (*): IMVI &gt; 125 g/m<sup>2</sup> (V); &gt; 110g/m<sup>2</sup> (M)</li> </ul> </li>   <li>- Placas de ateroma o engrosamiento de la pared carotídea (IMT &gt; 0.9)</li>   <li>- Índice tobillo-brazo &lt; 0.9.</li> <li>- Aumento ligero de la creatinina plasmática:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Varones: 1.3 - 1.5 mg/dl.</li> <li>- Mujeres 1.2 – 1.4 mg/dl.</li> </ul> </li> <li>- Disminución de la tasa de filtrado glomerular estimada (**) (&lt; 60 ml/min/ 1.73 m<sup>2</sup>) o del aclaramiento de creatinina (***) (&lt; 60 ml/min).</li> <li>- Microalbuminuria (30 - 3000 mg/24 horas) o aumento del cociente albúmina/creatinina: &gt;22 (V) ;&gt; 31 (M) mg/ g creatinina.</li> </ul>
DIABETES MELLITUS	ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR O RENAL ESTABLECIDA
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glucosa plasmática en ayunas &gt; 126 mg/dl en más de una determinación.</li>   <li>- Glucosa tras sobrecarga oral &gt; 198 mg/dl.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cerebrovascular: Ictus isquémico, hemorragia cerebral, ataque isquémico transitorio.</li> <li>- Cardíaca: Infarto de miocardio, angina, revascularización coronaria, insuficiencia cardíaca.</li> <li>- Renal: Neuropatía diabética, proteinuria (&gt; 300 mg/24 horas), insuficiencia renal (creatinina &gt; 1.5 mg/dl (V); &gt; 1.4mg/dL (M)).</li> <li>- Enfermedad arterial periférica.</li> <li>- Retinopatía avanzada: Hemorragias o exudados, edema de papila.</li> </ul>
<p>Nota: El síndrome metabólico se define como la presencia de tres o más de los cinco criterios siguientes: Obesidad abdominal, glucemia basal alterada, PA &gt; 130/85 mm Hg, descenso de HDL- Colesterol o aumento de Triglicéridos (como se ha definido anteriormente).            V: Varones; M: Mujeres; IMT: Grosos Íntima Media; **: Fórmula MDRD; ***: Fórmula Crockroft-Gault.</p>	



## 1.2 Prevalencia

La HTAe está presente en el 30-45% de la población general a nivel mundial y con un marcado aumento en las personas de edad avanzada. También existen diferencias entre países, siendo mayor en aquellos países donde no se ha realizado seguimiento y tratamiento de los niveles de presión arterial en los últimos 10 años (7-13). Apareciendo, además, diferencias en la incidencia de la hipertensión entre hombres y mujeres (14).

En España, según los datos recogidos por el Instituto Nacional de Estadística (INE) en 2015, las enfermedades cardiovasculares (ECVs) se mantuvieron como la primera causa de muerte con 267.6 fallecidos por cada 100.000 habitantes. Existiendo, además, una clara diferencia entre la población femenina y la masculina, siendo las ECVs la primera causa de defunción en el grupo de mujeres (286.9 muertes por cada 100.000) y la segunda en el caso de los hombres (247.6 muertes por cada 100.000), siendo los tumores la primera causa de muerte en el subgrupo masculino (15). (**Figura 1**)

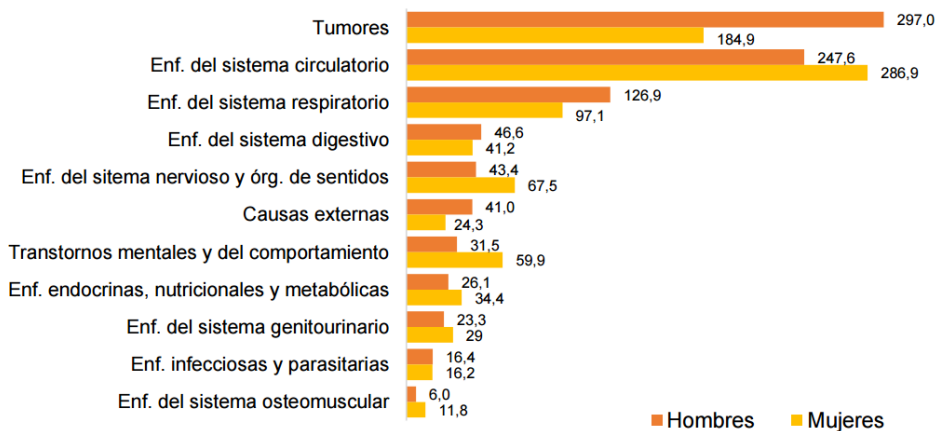


Figura 1. Tasa bruta por 100.000 habitantes según causa de muerte por enfermedad y sexo. (Año 2015)

El reciente estudio llevado a cabo en población española, Estudio Di@bet.es, concluyó que la presencia de la HTAe en la población general está en torno al 42.6%, afectando al 49.9% de los hombres y al 37.1% de las mujeres. Se observó que la HTAe era más frecuente en pacientes con mayor IMC, y que los niveles de presión arterial aumentan en función de la edad y el sexo (16).

---

## 1.3 Diagnóstico

Para obtener un diagnóstico fiable de hipertensión es esencial llevar a cabo una correcta medida de la presión arterial. Para ello, se han consensado una serie de pautas a tener en cuenta en el momento de realizar la medición en la consulta (17):

1. El paciente debe permanecer sentado entre 3 y 5 minutos en una sala tranquila antes de tomar las medidas de presión arterial.
2. Se deberán tomar, al menos, dos mediciones con un espacio de entre 1 y 2 minutos entre ellas. En caso de ser muy diferentes entre sí, se recomienda tomar una medida adicional.
3. Se utilizará un manguito estándar para las medidas de las presiones y será necesario tener disponibles manguitos de diferente tamaño para adaptarse correctamente al diámetro del brazo.
4. Cuando se use el sistema de medición por auscultación, tendrán que usarse los sonidos de Kortkoff en fase I y fase V para identificar la presión arterial sistólica y la diastólica respectivamente.
5. Tomar la medida en ambos brazos en la primera visita puede ayudar a detectar posibles diferencias. En ese caso, se tomará como referencia el valor más elevado.
6. La medida del pulso se llevará a cabo por duplicado mediante la palpación del pulso durante al menos 30 segundos con el paciente sentado.

El diagnóstico básico de la HTAe se basa en dos medidas de la PA en estado de reposo, tomadas en cada visita y a lo largo de dos o tres visitas.

## 1.4 Consecuencias

Una de las principales consecuencias de la hipertensión es el desarrollo de daño orgánico a diferentes niveles y en diferentes órganos diana, suponiendo un importante riesgo para el sistema cardiovascular, pero principalmente para el cerebro, el corazón y los riñones (17).

Debido al aumento de la presión en los vasos sanguíneos, a nivel cardíaco la HTAe puede llegar a generar una hipertrofia del ventrículo izquierdo, la cual puede llegar a pasar desapercibida si no existe un control del paciente. Con el tiempo, esta hipertrofia puede desencadenar diferentes patologías como el infarto de miocardio o la insuficiencia cardíaca entre otras. El corazón, como ya hemos mencionado, no es el único órgano que puede verse dañado como consecuencia de la hipertensión. Un aumento de la PA en el cerebro puede ocasionar un derrame cerebral de mayor o menor severidad. Otros de los órganos que más frecuentemente se ven dañados como consecuencia de la hipertensión son los riñones. La presencia de albúmina (ALB) en orina, provocada por un aumento de la filtración glomerular, indica que el paciente está desarrollando un fallo renal que, si no es controlado, dará lugar a una enfermedad renal crónica (ERC). (**Figura 2**)

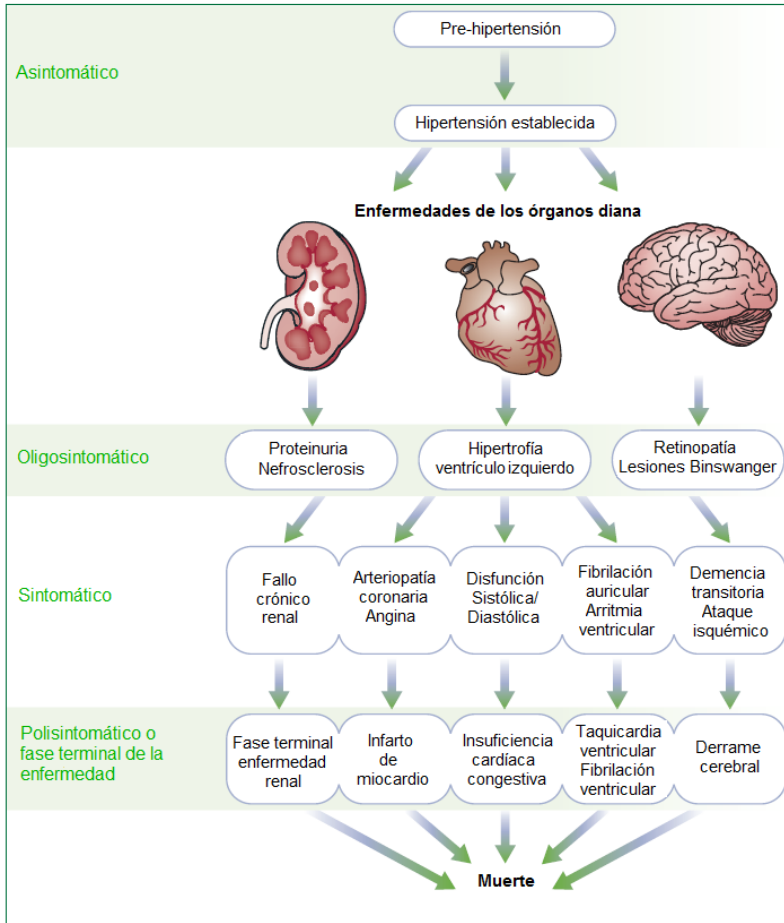


Figura 2. Rango de enfermedades consecuencia de la presencia de hipertensión en función del daño orgánico generado. (Adaptado de Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. The Lancet. 2007;370 (9587):591-603.)

## 2 Microalbuminuria

### 2.1 Definición y clasificación

El término Microalbuminuria (mALB) fue propuesto por primera vez por Keen y Chlouverakis, en 1969, para indicar la presencia de un ligero, pero anormal, incremento en los niveles de EUA por debajo de los umbrales de detección de los métodos usados comúnmente en pacientes con diabetes y elevados niveles de PA (18, 19). Finalmente, fue acuñado en la década de 1980, cuando los avances técnicos permitieron la cuantificación de la ALB en orina y se establecieron los valores anómalos de EUA (20).

La microalbuminuria se define por valores persistentes de excreción urinaria de albúmina (EUA) entre 30 y 299 mg/día. En condiciones normales, la EUA se encuentra en el rango de 5-10 mg/día(21, 22). Valores por encima de 300 mg/día son considerados como proteinuria o macroalbuminuria (23).

Otra manera de definir la mALB es la utilizada en el estudio LIFE (24), en este estudio se llevó a cabo una definición y clasificación de la mALB en función de la ratio albúmina/creatinina (ACR) en una única muestra de orina a primera hora de la mañana. Un valor de ACR superior a 30 mg albúmina/g creatinina implicaría que el paciente presenta mALB (25, 26).

Un resumen de las diferentes clasificaciones de la Malb, según las sociedades españolas, en función del tipo de muestra tomada se muestra en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Clasificación de la microalbuminuria en función del tipo de muestra tomada.

Clasificación	Orina 24h (mg)	Orina minutada ( $\mu$ g/min)	Muestra aislada (ACR mg alb/g crea)
Normoalbuminuria	< 30	< 20	< 30
Microalbuminuria	30 - 299	20 - 199	30 -299
Macroalbuminuria	> 300	> 200	> 300

Los valores que definen la mALB y la Macroalbuminuria varían en función de la guía consultada (**Tabla 5**) (21, 27-29). Pese a que estos términos están ampliamente difundidos, algunos autores consideran que pueden dar lugar a confusión y que deberían ser abandonados (30).

*Tabla 5. Clasificación de la microalbuminuria en las distintas guías internacionales.*

Guía	Muestra	Normoalbuminuria	Microalbuminuria	Macroalbuminuria
SIGN	Orina aleatoria	< 20 µg/min	20-200 µg/min	> 200 µg/min
	Orina 24 horas	< 30 mg/día	30-300 mg/día	> 300 mg/día
	Orina aleatoria (ACR)	H < 2.5 mg/mmol M < 3.5 mg/mmol	H < 2.5-30 mg/mmol M < 3.5-30 mg/mmol	> 30 mg/mmol
CARI	Tira	< 3 mg/dL	> 3 mg/dL	> 20 mg/dL
	Orina 24 horas	< 30 mg/día	30-300 mg/día	> 300 mg/día
	Orina aleatoria (ACR)	H < 1.9 mg/mmol	H > 1.9 mg/mmol	H > 28 mg/mmol
		H < 17 mg/g	H > 17 mg/g	H > 250 mg/g
		M < 2.8 mg/mmol M < 25 mg/g	M > 2.8 mg/mmol M > 25 mg/g	M > 40 mg/mmol M > 355 mg/g
KDOQI	Tira	< 3 mg/dL	> 3 mg/dL	> 3 mg/dL
	Orina 24 horas	< 30 mg/día	30-300 mg/día	> 300 mg/día
	Orina aleatoria (ACR)	H < 17 mg/g	H > 17 mg/g	H > 250 mg/g
		M < 25 mg/g	M > 25 mg/g	M > 355 mg/g
ADA	Orina aleatoria (ACR)	< 30 mg/g	30-300 mg/g	> 300 mg/g
SEN-samFYC	Orina aleatoria (ACR)	< 30 mg/g	30-299 mg/g	> 300 mg/g

SIGN: Scottish Intercollegiate Guidelines Network; CARI: Caring for Australasians with Renal Impairment; KDOQI: Kidney disease Outcomes Quality Initiative; ADA: American Diabetes Association; SEN: Sociedad Española de Nefrología.

En un principio, la mALB fue identificada como uno de los marcadores de riesgo cardiovascular y/o renal en pacientes diabéticos. Sin embargo, posteriores estudios han demostrado su valor pronóstico también en población general (31, 32).

Lamentablemente, los mecanismos fisiopatológicos que participan en el desarrollo de la microalbuminuria no son del todo conocidos (33), pero cambios en la hemodinámica pueden producir un incremento sistemático de la presión sanguínea llevando a un incremento del filtrado glomerular (34).

## 2.2 Prevalencia

La presencia de la mALB suele estudiarse asociada a alguna de las patologías para las cuales actúa como marcador de riesgo, DM2 o HTA. Debido a que el valor de EUA por sí mismo presenta poco valor pronóstico (35) los estudios acerca de la presencia de mALB en población general son escasos.

Se ha comprobado que la presencia de mALB en la población general es poco frecuente, no observándose grandes discrepancias entre hombres y mujeres. Sí que se ha descrito, no obstante, que existe una mayor incidencia de la patología en población de más edad (36). Las diferencias en cuanto a prevalencia se han observado también a nivel étnico, según el estudio realizado por Fischbacher, existen diferencias entre la población europea y la población asiática (37). De hecho, se están realizando estudios para comprobar si la pre-microalbuminuria o niveles de EUA mayores a 15 mg/día puede ser un elemento pronóstico para las ECV en población asiática(38).

Estudios realizados sobre la población española muestran la poca presencia de la mALB en la población general, confirmándose también la ausencia de diferencia entre hombres y mujeres observadas en otras poblaciones (36). Estos estudios ponen de manifiesto que la mALB tiene una mayor incidencia en poblaciones hipertensas y/o diabéticas y el segmento de la población de edad más avanzada (39-41).

---

## 2.3 Diagnóstico

Pese a que la toma de muestra de orina de 24 horas es un buen estándar para la detección de mALB, algunos estudios han demostrado una gran correlación entre la orina de la mañana y las recolecciones de 24 horas, permitiendo el diagnóstico a partir de cualquiera de las dos (42).

El diagnóstico de la mALB se lleva a cabo mediante la toma de una muestra de orina en la que se mide la cantidad de ALB mediante técnicas semicuantitativas o cuantitativas (43, 44).

- Técnicas semicuantitativas.
  - **Tiras reactivas:** la ALB reacciona con un tinte de sulfonaftaleina para producir un cambio de coloración en la tira reactiva. Los rangos de resultado van desde el verde pálido hasta el azul acuoso, estos colores se comparan con una escala colorimétrica del envase para poder determinar de manera semicuantitativa la cantidad de ALB presente en la muestra. Estas tiras suelen detectar valores de EUA de entre 30-300 mg/L orina. Existen también en el mercado dispositivos que incorporan en la tira dos zonas de reacción; una para la ALB, impregnada con un colorante de elevada afinidad y especificidad (tetrabromosulfoftaleína) y otra zona para la medida de la creatinina (basada en la actividad peroxidasa frente a un complejo cobre-creatinina), que proporcionan medidas aproximadas del cociente ACR en tres categorías, <3,4, 3,4-33,9 y >33,9 mg/mmol.
- Técnicas cuantitativas:
  - **Ensayos de inmunoturbidimetría:** La ALB reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de ALB en la muestra y puede ser medida usando un espectrofotómetro.



- **Cromatografía líquida de alta resolución:** esta técnica permite separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. Esta técnica produce valores más altos con respecto a los inmunoanálisis ya que detectan formas de ALB no inmunorreactivas.

Se recomienda el uso del ACR como estrategia de cribado en pacientes diabéticos (45). Sin embargo, si no se dispone de la metodología para obtener esta ratio, pueden utilizarse las tiras reactivas, aunque estos resultados, de ser positivos, deben confirmarse mediante métodos más precisos.

El diagnóstico no se basa en una única toma de muestra que presente valores elevados de EUA, sino que es imprescindible que dicho incremento sea persistente en el tiempo, Requiriendo dos resultados positivos de tres muestras recogidas en un intervalo de 3 a 6 meses (46).

### 3 La Microalbuminuria en la Hipertensión

Con el tiempo, la medida de la función renal, particularmente el incremento de la EUA, se ha convertido en un marcador pronóstico en las ECVs(18, 19).

Las cifras sobre la presencia de la mALB en la HTAe han dado resultados variables debido a diferentes parámetros: punto de corte elegido, la selección de pacientes y, más importante, la duración de la hipertensión y la existencia de tratamiento previo asociado a un control adecuado o no de la misma mediante terapia farmacológica, la cual puede influir mucho en la albuminuria (**Tabla 6**)

Tabla 6. Tabla resumen de la prevalencia de la mALB en HTAe en función de diversos estudios.

Autores (Referencia)	Núm. pacientes	Edades	Punto de corte PA	Muestra	Punto de corte EUA	Prevalencia (%)
Bigazzi et al. (47)	123	40-60	140/90	24h	20 µg/min	37
Cerasola et al. (48)	383	25-63	PAD 95	24h	20 µg/min	27
Mimram et al. (49)	147	15-64	PAD 90	24h	20 µg/min	17
Summerson et al. (50)	71 38	30-80	>160/95	O/N	30 µg/min	14 32
Redon et al. (51)	95	25-50	PAD 85	24h	30 µg/min	26
Pontremoli et al. (52)	71	30-80	PAD 90	O/N	30 µg/min	14

PA: presión arterial; PAD: presión arterial sistólica; O/N: toda la noche; EUA: excreción urinaria de albúmina

Como muestra la **Tabla 6**, la presencia de la mALB en la población hipertensa está estimada entre el 20-30%. Sin embargo, estudios llevados a cabo en pacientes no tratados con antihipertensivos muestran una prevalencia del 10-20%, la mayoría de ellos presentaban una corta trayectoria en el diagnóstico de la HTA. En el caso de aquellos individuos que no habían sido tratados, pero que además presentaban sobrepeso y eran fumadores, la presencia de la mALB era del 20% (49). Por otra parte, en el estudio desarrollado por Summerson *et al*, una cohorte de 109 pacientes con valores de presión arterial mayor de 160/95 que no habían recibido tratamiento previo, o que, como

máximo, estaban tratados con una baja cantidad de inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), mostraban una presencia de la mALB superior en población africana (32%), que en población caucásica (14%) (50).

La mALB en la HTAe es, probablemente, consecuencia de un aumento de la filtración transglomerular como resultado de un descenso en la reabsorción de la ALB a nivel del túbulo proximal, como sugieren los hallazgos de beta-2microglobulina en pacientes microalbuminúricos y normoalbuminúricos con hipertensión (53).

El incremento del paso transglomerular de ALB puede ser el resultado de una alteración de la permeabilidad glomerular a la ALB a un aumento hemodinámico del filtrado de la misma, o a ambos. La hiperfiltración es propia de pacientes diabéticos, tanto insulinodependientes como no (54), cuando cursa con mALB. De forma que tanto la hiperfiltración glomerular, como la presencia de mALB pueden tener un gran valor predictivo en el desarrollo de la nefropatía diabética y la insuficiencia renal progresiva (55).

La presencia de la hiperfiltración se ha considerado como un marcador temprano de daño orgánico asociado con la ratio de filtración glomerular y la mALB (56, 57), aunque existen resultados contradictorios respecto al papel de la hiperfiltración donde hablan de un incremento (58), una disminución(59) o de ausencia de variación (60) de los niveles de aclaramiento de la creatinina en pacientes hipertensos con mALB. Mimram, por su parte, no encontró diferencias de la ratio de filtración glomerular basal entre hipertensos con o sin mALB (60),pero él mismo observó que en un grupo de pacientes sin obesidad, sujetos hipertensos con hiperfiltración presentaban valores de EUA similar a la observada en pacientes con normofiltración (61). Esto sugiere que, aunque la hiperfiltración sostenida por un aumento de la presión intraglomerular pueda preceder al desarrollo de la mALB, no existe evidencia de un vínculo entre la albuminuria excesiva y la hipertensión glomerular (evaluada por la medición de la fracción de filtración, único parámetro disponible en estudios en humanos) en la hipertensión esencial.

---

Está ampliamente aceptado que la PA, sobretodo la PAS, es el mayor determinante de la presencia de mALB en la hipertensión esencial (48-50, 62, 63). Además, se sabe que otros factores relacionan la albuminuria con la presión arterial como son el hecho de ser hombre (51, 62), presentar sobrepeso (64, 65), ser insulino-resistente (66-68) , la ingesta de proteínas (49), el tabaco (69, 70), anormalidades lipídicas (49, 51) y factores endoteliales y hemostáticos (71-73).

En cuanto a los factores hemostáticos, el sistema renina-angiotensina es uno de los principales, ya que juega un papel importante en la regulación de la PA. Tanto los inhibidores de la ECA, como los antagonistas de los receptores de la angiotensina II, han demostrado ser tratamientos efectivos para la hipertensión arterial (2) y, dado que se encargan de disminuir los valores de PA, reducen la presión en el glomérulo atenuando así la hiperfiltración de proteínas de bajo peso molecular como la ALB (74).

## 4 Genética de la Microalbuminuria en la Hipertensión

A lo largo de los años, muchos de los factores relacionados con la mALB se han estudiado extensamente en estudios transversales y longitudinales. Se sabe que los niveles de PA, la hiperglucemia, hiperinsulinemia así como la resistencia a la insulina son los factores principales (67, 68, 75, 76), pero otros factores como la obesidad (65) y el tabaco (70) también están implicados en el desarrollo de la mALB.

Con el tiempo, los factores genéticos también han sido tenidos en cuenta, y se han abordado desde distintos puntos de vista, llevándose a cabo múltiples estudios: genes candidatos (77-79), análisis de genoma completo (GWAS) (80, 81) y análisis de ligamiento (82), para dilucidar el papel de la genética en la relación existente entre la mALB y la HTA.

---

## 4.1 Estudios de Genes Candidatos

El estudio mediante el análisis de genes candidatos ha sido una de las principales herramientas para la identificación de genes y de sus variantes implicadas en el desarrollo de mALB. Los genes candidatos se eligen de los sistemas que están implicados en la regulación de la presión sanguínea o se sospecha que pueden estarlo. Estos estudios comparan la frecuencia alélica de un marcador polimórfico, o un grupo de marcadores, relacionados con las variables establecidas como de interés.

Para estudios caso-control utilizando esta aproximación, es esencial que tanto los casos como los controles pertenezcan a la misma población para reducir la heterogeneidad genética debido a diferencias étnicas (83).

En este campo se han estudiado numerosos sistemas metabólicos como el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), el sistema adrenérgico y el estrés oxidativo entre otros.

### 4.1.1 Sistema renina-angiotensina-aldosterona

El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAAS) es un sistema hormonal que regula la presión sanguínea, el volumen extracelular corporal y el balance de sodio y potasio. La renina es secretada por las células del aparato yuxtaglomerular del riñón. Esta enzima cataliza la conversión del angiotensinógeno, una glicoproteína secretada en el hígado, en angiotensina I que, a su vez, mediante la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), se convierte en angiotensina II, cuyo efecto es la liberación de la aldosterona por la corteza de la glándula suprarrenal. (**Figura 3**) (84)

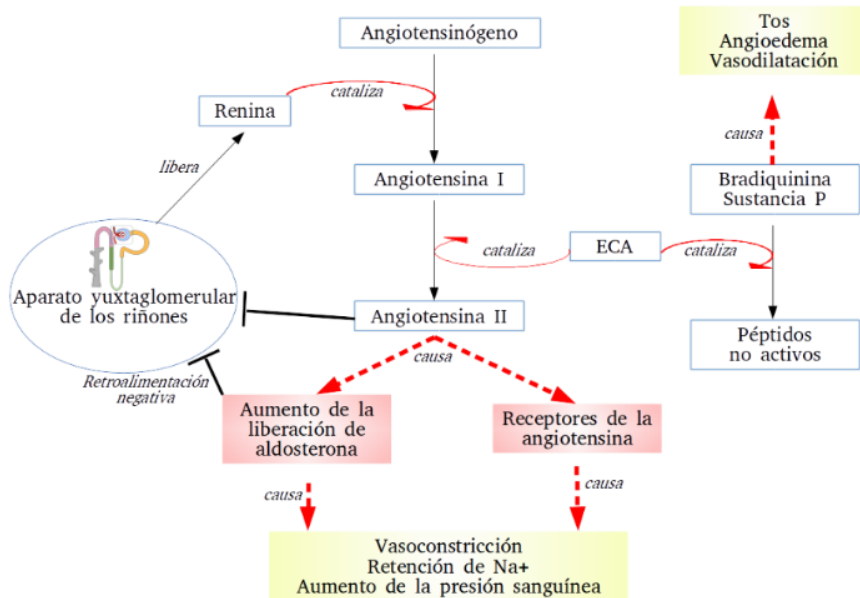


Figura 3. Esquema del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

El RAAS es conocido por influir en muchos aspectos del control de la presión arterial, incluyendo el balance de sodio, el desarrollo celular en el corazón, así como en la contracción de los vasos sanguíneos (85).

Existen múltiples estudios centrados en el RAAS. Este sistema de rutas regula los niveles de angiotensina II tanto en plasma como en tejidos. Estos estudios han originado resultados, por lo general, contradictorios y no todas las asociaciones han podido ser replicadas (86-89).

Varios polimorfismos de los genes del RAAS, como son el de inserción/delección (I/D) del gen de la ECA, el M235T del gen del angiotensinógeno (AGT), el A1166C del gen del receptor tipo I de la angiotensina II (AT1R) o el del gen de la aldosterona sintetasa (CYP11B2), T344C, se han relacionado con características del daño renal (90, 91).

---

El alelo D del polimorfismo de la ECA parece incrementar el riesgo de nefroangioesclerosis independientemente de los niveles de PA (92-94). Además, este alelo se ha asociado con un mayor riesgo de nefroangioesclerosis en comparación con los pacientes hipertensos sin daño renal (74), hallazgo replicado en una cohorte independiente de pacientes hipertensos con y sin daño renal (95).

Si hablamos de la relación de estos genes con la mALB, existen estudios transversales utilizando como población individuos no tratados previamente contra la hipertensión, en los que se observa que aquellos pacientes con el genotipo DD presentan valores más elevados de EUA (96).

Por su parte, el gen *AT1R* ha sido analizado en población hipertensa joven (menores de 50 años), donde se ha observado que el genotipo AA del polimorfismo A1166C se asocia a menores valores de EUA. Además, el estudio sugiere un fuerte ligamiento del alelo A del polimorfismo A1166C con el alelo T del polimorfismo C573T del mismo gen (97).

En el gen del angiotensinógeno, el polimorfismo M235T se encuentra en un fuerte desequilibrio de ligamiento con otro polimorfismo localizado en la región promotora del gen (A-6G), según un estudio en una población joven de hipertensos. Aunque no se observaron diferencias significativas para ninguno de los genotipos para las comparaciones entre los individuos con y sin mALB (98). Estos resultados han sido replicados en un trabajo de nuestro grupo, donde se concluye que no existe asociación de ninguno de estos dos polimorfismos con la EUA en pacientes hipertensos (99). Sin embargo, se ha asociado la presencia del genotipo AA del polimorfismo A-6G con resistencia a la disminución de los niveles de EUA en un estudio con seguimiento de 3 años en una población hipertensa (98).

En el estudio llevado a cabo por el grupo de Pontremoli, se observó que aquellos pacientes que tienen el alelo D en el gen *ECA*, el alelo T en el polimorfismo M235T del gen *AGT1* y el alelo C en el polimorfismo A1166C del gen *AT1R*, presentan un mayor daño



orgánico temprano comparado con aquellos que portan distinta combinación de genotipos y además presentan mayores niveles de EUA (100).

### 4.1.2 Sistema Adrenérgico

El Sistema Adrenérgico está integrado por un conjunto de fibras nerviosas simpáticas, pertenecientes al sistema nervioso autónomo, que utiliza como neurotransmisor la adrenalina y otras catecolaminas. Se trata de un sistema que actúa controlando las acciones involuntarias del cuerpo y responde a impulsos nerviosos de la médula espinal, hipotálamo y tallo cerebral. Entre sus funciones se encuentran: intervenir en el funcionamiento de la frecuencia cardiaca y respiratoria, contraer y dilatar los vasos sanguíneos y dilatar la pupila entre otros. Varios genes importantes dentro de este sistema han sido analizados en relación a los niveles de PA y mALB, entre ellos el de la adrenomedulina (*ADM*) y el receptor beta-adrenérgico tipo 2 (*ADRB2*).

La ADM es un péptido vasodilatador que presenta múltiples efectos fisiológicos que contribuyen a respuestas homeostáticas. Se encuentra en importantes concentraciones en la glándula suprarrenal, el pulmón y los sistemas cardiovascular y renal. La ADM, una vez unida a su receptor (101), es capaz de inducir un aumento del AMP cíclico y dependiendo de la célula diana sobre la que actúe, ejerce su efecto a través de mecanismos de acción diferentes (102-104).

Los niveles de ADM se encuentran elevados en pacientes con enfermedad cardiovascular, así como en aquellos que presentan infarto de miocardio, hipertensión pulmonar o ERC (105). Entre los efectos que tiene la ADM, es capaz de inhibir la secreción de aldosterona y aumenta el gasto cardiaco, lo que provoca hipotensión (106). Además, la ADM protege de la hipertrofia cardiaca, la fibrosis y el daño renal, complicaciones de la hipertensión (78, 107-109) (**Figura 4**). De modo que juega un papel importante en la fisiopatología de las enfermedades vasculares y los genes que controlan este sistema pueden estar involucrados en el desarrollo de la HTAe (110).

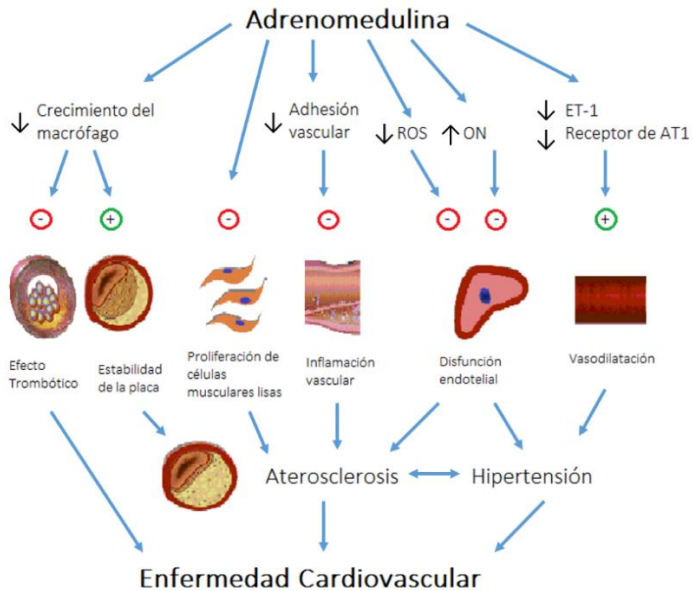


Figura 4. Implicaciones clínicas de la adrenomedulina.

En el estudio llevado a cabo por el grupo de Kobayashi no identificaron asociaciones de los polimorfismos seleccionados de la ADM, pero sí se relacionó con mALB el alelo 19 para el número de repeticiones en la región microsatélite localizado, aproximadamente, a 5.400 pb del extremo 3' del gen de la ADM, el alelo A del rs4399321 y el alelo G del rs7944706 (111).

El SNP rs1042713 (Arg16Gly) del receptor beta-adrenérgico tipo 2 (*ADRB2*) se asocia con elevados niveles de norepinefrina y la disminución de la función renal (112). Otro polimorfismo de este mismo gen, rs1042714 (Gln27Glu), ha sido relacionado con el remodelado del ventrículo izquierdo tras el tratamiento antihipertensivo (113).

Por otra parte, hay estudios que respaldan que la hiperactividad del sistema nervioso simpático puede ser uno de los factores que contribuyen al desarrollo de la mALB y de la insuficiencia renal, debido a que es una hiperactividad sostenida en el tiempo que puede inducir cambios en los vasos sanguíneos intrarenales (114).

### 4.1.3 Estrés Oxidativo

El término estrés oxidativo hace referencia a un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y su eliminación mediante sistemas antioxidantes, ya sea por un aumento en la generación de estas especies, o bien por una disminución de los sistemas protectores. Se caracteriza por el aumento de la actividad oxidativa en el interior celular, originando cambios estructurales y funcionales que aceleran el envejecimiento y favorece la apoptosis.

Algunas de las consecuencias del estrés oxidativo son el deterioro de los tejidos y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares e incluso cáncer (115, 116).

Las diferentes enzimas involucradas en el estrés oxidativo han sido ampliamente estudiadas en su relación con diferentes patologías. El grupo de Dell’Omo analizó la posible asociación de la óxido nítrico sintetasa endotelial (*eNOS*) con la mALB y la disfunción endotelial en hombres hipertensos. Los resultados obtenidos mostraron la ausencia de asociación entre la mALB y los polimorfismos analizados, el posible problema de este trabajo puede ser la elección de la población, dado que se sabe que la *eNOS* puede estar involucrada en el desarrollo de la hipertensión (117).

Otros estudios ponen de manifiesto el papel de la catalasa (*CAT*) como punto de regulación en diferentes patologías como la hipertensión, la diabetes, la artritis reumatoide o el asma (118). El estudio de Jiang *et al.* identificó la asociación del genotipo TT del rs769214 (c.-844C>T) con elevados valores de PAS (119), cuyos datos han sido replicados en investigaciones posteriores (120). Otro trabajo de nuestro grupo ha identificado una posible asociación de otro de los polimorfismos del gen *CAT*, pero esta vez con bajos niveles de PA, en este caso se trata del alelo T del rs1049982 (121).

Varios estudios en nuestra unidad han puesto de manifiesto, también, la asociación de bajos valores de PA con el polimorfismo rs253612 de la superóxido dismutasa 3 (*SOD3*) y el papel de la xantina oxidoreductasa (*XO*) debido a la relación de

---

los alelos -337GA y 565+64CT con los niveles de PA y estrés oxidativo en la hipertensión (122). Así mismo, la investigación de Watanabe *et al* en población china ha vinculado la función de la superóxido dismutasa 2 (*SOD2*) con la presencia de la hipertensión pulmonar(121).

Otras aproximaciones al estudio de la relación entre el estrés oxidativo y la HTAe han sido a través del análisis de las proteínas del sistema glutatión. El trabajo de Mohammedi *et al.* evaluó la asociación del gen de la glutatión peroxidasa (*GPX1*) y las complicaciones derivadas del daño renal en una población diabética, obteniendo como resultado la asociación del alelo T del rs3448. (123)

## 4.2 GWAS

Los GWAS, como su nombre indica, consisten en análisis de variaciones genéticas a lo largo del genoma completo con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo medible o con la presencia o ausencia de una determinada patología. Por lo general, se realizan a través de sistemas de alto rendimiento.

Este tipo de estudios suelen emplearse en la identificación de factores genéticos frecuentes que pueden ser responsables de variaciones comunes en rasgos complejos y se basan en la teoría “enfermedad común, variante común”, es decir, que las influencias genéticas, en muchas enfermedades comunes, se deben en parte, a un número limitado de variantes alélicas presentes en más del 5% de la población. Por otra parte, hay que tener en cuenta que muchas de las variantes causantes de enfermedades, son menos frecuentes y es posible que no se detecten a través de este enfoque, ya que se ajustarían más a la premisa “enfermedad común, variante rara”(124, 125). (Figura 5)

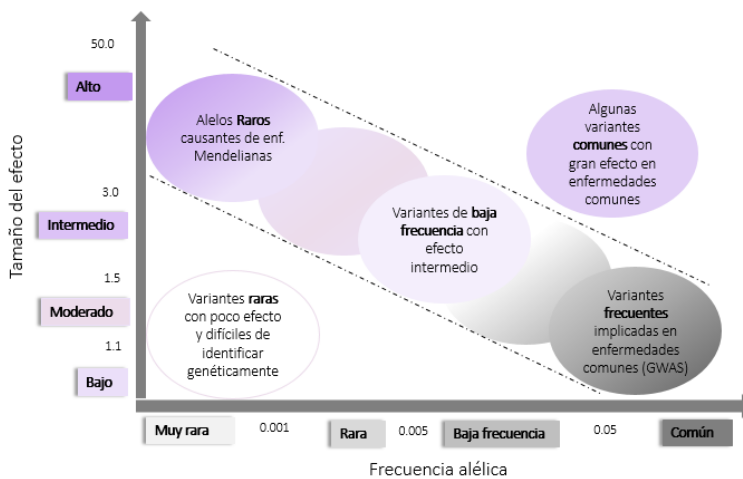


Figura 5. Efecto vs Frecuencia de las variantes genéticas. (Adaptado de Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. Nature. 2009;461(7265):747-53)

A pesar de que el primer GWAS publicado por el Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC) no encontró ninguna variante asociada con la hipertensión o los

niveles de PA (126) (**Figura 6**), se han seguido llevando a cabo este tipo de estudios con el objetivo de hallar nuevas variantes asociadas a esta patología.

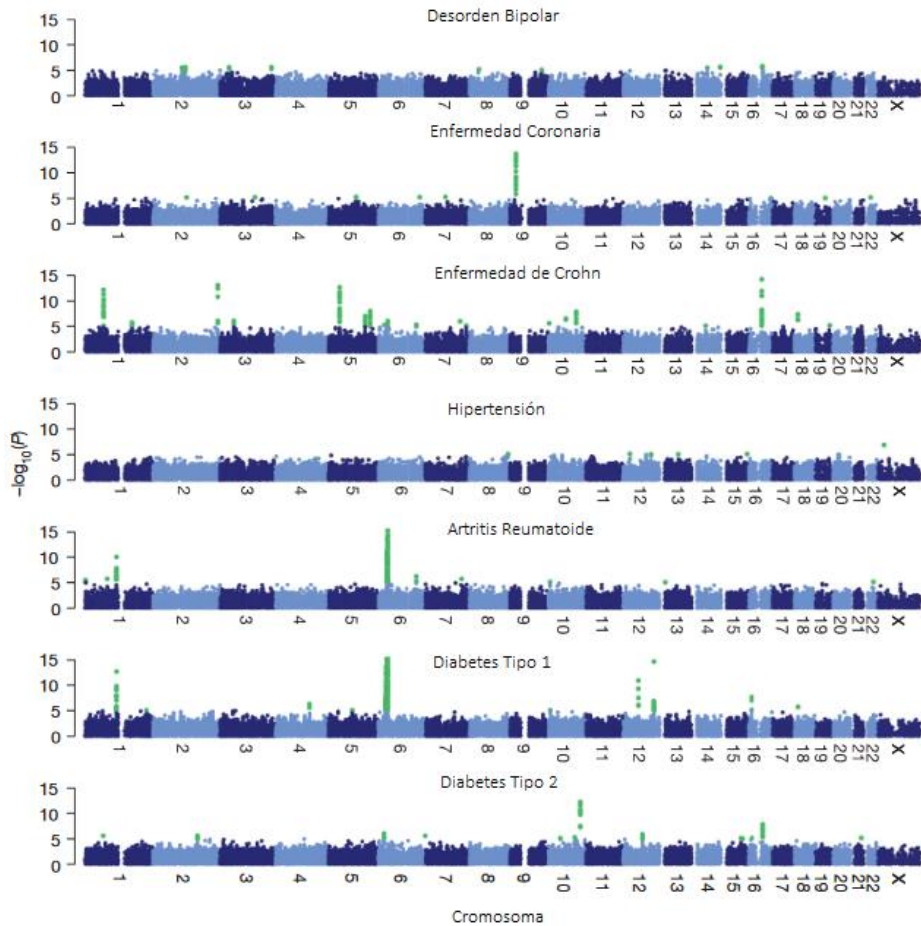


Figura 6. Resultados del GWAS realizado por el WTCCC. (Adaptado de WTCCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447(7145):661-78)

Posteriores GWAS han confirmado algunas de las asociaciones de genes descritos previamente y han permitido identificar nuevas asociaciones con la HTA. La heredabilidad de los diferentes parámetros renales en diferentes estudios avala la importancia de los factores genéticos y la posible interacción con los factores ambientales (127-129).

Los GWAS para la identificación de marcadores genéticos asociados a la mALB no son muchos, entre ellos se encuentra el “The British Genetics of Hypertension (BRIGHT) study” (130), donde se analizó la asociación de EUA, en muestras de orina de 24 horas, con chips de más de 500.000 polimorfismos. Este trabajo permitió, principalmente, identificar dos polimorfismos localizados en los cromosomas 3 y 12 (rs17006217 y rs11111839 respectivamente) asociados con mALB, pero ninguno ha sido replicado en otras poblaciones.

Otros estudios han sido realizados en el “NHLBI’s Framingham Heart Study” (131, 132), donde analizaron 100.000 polimorfismos en 1.345 individuos, confirmaron la asociación con la EUA con varios polimorfismos en familias de genes que ya habían sido descritos en estudios previos, como fueron el gen *ADAM23* y *PCDH9*, pertenecientes a las familias de las metaloproteinasas y cadherinas respectivamente.

Otro GWAS, llevado a cabo para investigar la importancia de los factores genéticos en el desarrollo de la mALB, es el realizado en nuestro grupo, donde se han estudiado 302 individuos hipertensos con un seguimiento de más de 5 años de media. En este GWAS se han analizado un total de 250.000 polimorfismos. Los resultados de este GWAS son el punto de partida del presente trabajo doctoral, entre sus hallazgos se destaca la asociación del rs6980941 (*MSR1*), el rs2154401 (*CXCL12*) y rs7974380 (*KSR2*)(133).

---

## 4.3 Análisis de ligamiento

Los análisis de ligamiento nos permiten establecer asociaciones entre marcadores genéticos próximos entre sí y con una baja tasa de recombinación entre ellos, con una determinada variable.

En varios análisis de ligamiento se han identificado distintas regiones asociadas a diferentes parámetros de la función renal. Estudios en la población HyperGen han asociado el aclaramiento de la creatinina en afroamericanos y europeos, con una región en el brazo corto del cromosoma 3 (3q), la cual contiene diferentes genes candidatos (128, 134). En el caso del filtrado glomerular, se ha identificado un marcador en la región del brazo largo del cromosoma 12 (12p)(135, 136).

Es interesante señalar que, en varias de las regiones identificadas mediante los estudios de ligamiento, se localizan genes del metabolismo lipídico (137-139) relacionado con el desarrollo de la arterosclerosis acelerada por la presencia de hipertensión (127), y genes que codifican proteínas estructurales de la membrana glomerular y de las células tubulares que pueden tener también un papel en el desarrollo de la mALB.



# Hipótesis y Objetivos

---

---

La excreción urinaria de albumina es un marcador de riesgo cardiovascular que está asociado, entre otros, a la hipertensión arterial. En su desarrollo, existen factores genéticos y ambientales implicados tanto en el desarrollo de la hipertensión esencial como en la aparición de un aumento en la excreción urinaria de albumina.

## Hipótesis

Existe una base genética de rasgos complejos en el incremento de los niveles de excreción urinaria de albúmina asociados a la hipertensión.

---

# Objetivos

El objetivo principal del presente proyecto es la identificación de factores genéticos asociados a los niveles de excreción urinaria de albúmina en la hipertensión esencial.

Estudios previos de nuestro grupo realizados en población hipertensa han identificado mediante GWAS una serie de polimorfismos susceptibles de mostrar asociación con el riesgo de presentar mALB. Por lo tanto, para verificar esta posible asociación, se analizarán los resultados en una población hipertensa de mayor tamaño y se validarán estos nuevos datos en una población general independiente, con el objetivo de encontrar nuevos genes asociados al desarrollo de mALB (**Figura 7**).

Los objetivos secundarios del trabajo incluyen:

- Analizar las diferencias en las características clínicas y antropométricas entre pacientes normo y microalbuminúricos.
- Identificación de marcadores genéticos asociados al riesgo de presentar valores elevados de EUA, calificados como microalbuminuria, como variable categórica.
- Identificar genes asociados a los niveles de EUA como variable continua.
- Replicación de los resultados obtenidos en estudios previos.
- Identificación de marcadores genéticos asociados a la presencia de HTAe.

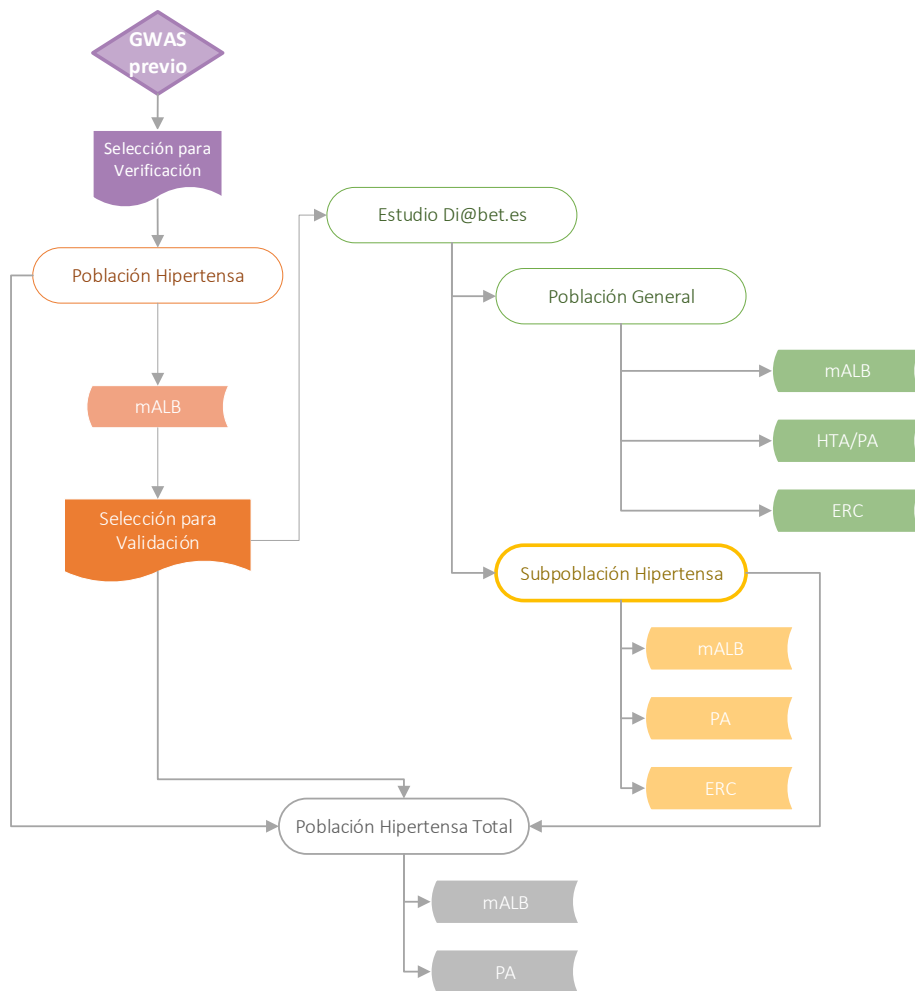


Figura 7. Diagrama de flujo de los objetivos.



# Metodología

---

---



## 5 Estudio en Población Hipertensa

### 5.1 Diseño del Estudio

Este proyecto de tesis doctoral se concibió como un estudio transversal con el objetivo de realizar la replicación de los resultados obtenidos en el estudio previo en nuestro grupo y otros estudios realizados en poblaciones diferentes a la española, en una muestra de mayor tamaño de pacientes hipertensos con similares características a los analizados inicialmente mediante GWAS por nuestro grupo.

El estudio buscaba analizar la asociación entre diferentes variables relacionadas con la hipertensión y el daño renal, usando la mALB como marcador, y los diferentes polimorfismos seleccionados a partir de los resultados obtenidos en el GWAS ya indicado.

#### 5.1.1 Selección de la Población de Estudio

Como población de estudio se incluyó a participantes de edades comprendidas entre los 18 a 85 años, con un diagnóstico de hipertensión y que nunca hubieran sido tratados de la misma. La selección de los individuos se llevó a cabo sobre las diferentes poblaciones disponibles en nuestro laboratorio (Estudio “Hortega” (140), Sagunto (133), POLPRI (141) e IT), seleccionando aquellos que poseían valores de presión sistólica superior a 140 y/o una presión diastólica superior a 90 mm Hg.

Los criterios de exclusión fueron la presencia enfermedades o trastornos graves que pudieran influir en la recopilación de información fiable, cualquier condición social o mental que podría complicar o impedir la participación del sujeto en el estudio y el tratamiento farmacológico de la hipertensión.

Los valores de EUA se midieron utilizando muestras de orina de primera hora de la mañana mediante inmunoensayos nefelométricos (Behring Institute). Para cada

---

muestra, la albuminuria se consignó como el valor de ALB excretada (mg/L) y se clasificó como microalbuminúricos aquellos que presentaban un EUA  $\geq$  30 mg/L

En total, se incluyeron 902 individuos (479 hombres y 423 mujeres) de entre las distintas poblaciones disponibles para los estudios de asociación.

Todos los pacientes dieron su consentimiento informado en el momento de ser incluidos en sus respectivos estudios.

### *Extracción y Preparación de las Muestras*

La extracción de ADN genómico de las muestras se realizó utilizando el sistema automático Chemagig Magnetic Separador Module 1 (Chemagen, Baesweiler, Germany) y posteriormente se cuantificó mediante fluorescencia usando Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit (Invitrogen™), midiendo la fluorescencia emitida entre 510-570 nm en el espectrofluorímetro GLOMAX Multi+ Detection System (Promega), según las especificaciones de la casa comercial.

Aquellas muestras que presentaron baja concentración de ADN se amplificaron mediante el kit de amplificación Genomiphi v2 (GE-HEALTHCARE BIO SCIENCES), las reacciones se hicieron siguiendo las especificaciones de la casa comercial.

## **5.1.2 Selección de Variantes Genéticas de Estudio**

A partir de los resultados del GWAS de nuestro grupo y de una búsqueda bibliográfica centrada en aquellos polimorfismos para los cuales se había encontrado asociación con la mALB en su trabajo. Se creó un listado de 1.536 polimorfismos de un único nucleótido (SNP) (**Anexo 1**), de los cuales 1.467 procedían de nuestro estudio y 69 de la bibliografía.

La adecuación a la técnica de los SNPs que iban a ser estudiados se hizo empleando la aplicación informática propia de Illumina (Illumina Inc.) para el diseño de los chips para el GoldenGate Genotyping Assay (142).

---

## 5.2 Metodología de genotipado: Illumina® GoldenGate® Genotyping Assay

El Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay (Illumina Inc.) permite estudiar un elevado número de loci (1536 SNPs) en unos pocos pasos de extensión y amplificación, minimizando el tiempo y el volumen de los reactivos y muestra empleados en el proceso. Esta metodología combina un ensayo multiplex con un sistema muy preciso de escaneado. Se trata de un ensayo customizado por el investigador, en el cual se incluyen los SNPs de su interés para cada estudio.

La tecnología de Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay nos permitió llevar a cabo el genotipado de los 1.536 SNPs seleccionados, incluidos en cada chip, en un total de 902 muestras, analizando 32 muestras en un solo soporte, con un bajo requerimiento de muestra. Fueron necesarios 250 ng de DNA por muestra.

El flujo de trabajo establecido para este protocolo se resume en la **Figura 8**.

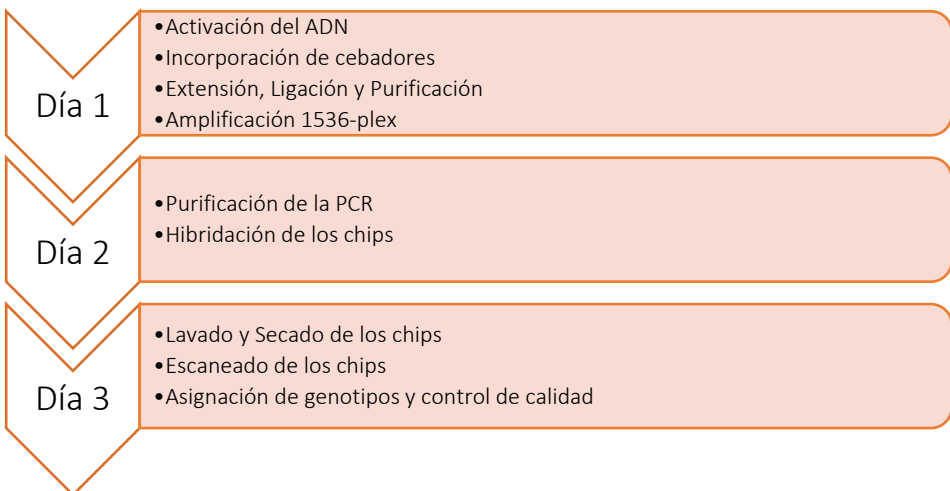


Figura 8. Flujo de trabajo del Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay dividido por días de trabajo.

Siguiendo el guion marcado por el flujo de trabajo de Illumina, los pasos necesarios para llevar a cabo el protocolo establecido son los siguientes:

## 5.2.1 Activación del ADN mediante la adición de biotina

Este primer punto del protocolo consistió en un paso de marcaje con partículas paramagnéticas (estreptavidina) de 250 ng de ADN genómica (ADNg), seguido de uno de purificación del producto mediante precipitación para la eliminación de los restos de reactivo de activación. Finalmente, se resuspendió el ADNg marcado y activado en un tampón compatible con los siguientes pasos, proporcionado por Illumina Inc.

Los pasos necesarios para la activación del ADN fueron los siguientes:

1. Diluir de las muestras hasta 50 ng/ $\mu$ l con EDTA 10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM.
2. Añadir 5  $\mu$ l de MS1 a una placa de 96 pocillos y seguidamente 5  $\mu$ l de muestra normalizada (placa SUD).
3. Sellar de la placa. 20 seg. Vórtex y pulso de centrifuga.
4. Incubar a 95°C durante 30 minutos. Pulso de centrifuga a 250g.
5. Añadir 5  $\mu$ l de PS1 a cada muestra. Sellar la placa térmicamente, pulso de centrifuga a 250g. Agitación a 2300 r.p.m durante 20seg. (la solución tiene que adquirir un tono azul uniforme)
6. Eliminar la tapa adhesiva. Añadir 15  $\mu$ l de 2-propanol a cada muestra de la placa SUD y tapar de nuevo. Agitar a 1600 r.p.m hasta que la solución recupere el tono azul. Centrifugar a 3000 g durante 20 min.
7. Eliminar el sobrenadante por inversión. Secar sobre papel secante durante 15 min. para eliminar el exceso de líquido (La presencia de pellet azul en el fondo del pocillo indicó que el DNA había precipitado correctamente.
8. Añadir 10  $\mu$ l de RS1 a cada uno de los pocillos de la placa SUD. Pulso de centrifuga a 250 g. Agitación a 2300 r.p.m hasta que el pellet esté disuelto completamente.

---

## 5.2.2 Combinación con cebadores específicos

Al ADN<sub>g</sub> marcado y activado se le añadió el pool de sondas diseñadas por Illumina Inc. para la selección de polimorfismos seleccionados contenidos en el reactivo OLA. En este punto, las sondas se unieron a sus regiones complementarias en el ADN<sub>g</sub>.

Los pasos fueron:

1. Añadir en una placa nueva de 96 pocillos 30 µl de OB1 y 10 µl de OPA (placa ASE).
2. Transferir 10 µl de ADN genómico (ADN<sub>g</sub>) de la placa SUD a la placa ASE.
3. Sellar térmicamente la placa ASE. Pulso de centrifuga a 250 g. Agitación a 1600 r.p.m durante 1 min.
4. Introducir en el bloque seco a 70°C e inmediatamente cambiar la temperatura hasta 30°C. Mantener la incubación de 2 a 16 horas.

## 5.2.3 Extensión y ligación de cebadores

Una serie de reactivos proporcionados por Illumina Inc. fueron añadidos para eliminar los posibles restos de sondas no unidas específicamente al ADN<sub>g</sub> antes de proceder a al paso de extensión. Seguidamente se produjo un paso de extensión enzimática y ligación de las sondas hibridadas.

Se requirieron los siguientes pasos:

1. Pulso de centrifuga a 250 g.
2. Incubar de la placa ASE en el soporte magnético durante 2 min. Eliminar del sobrenadante con cuidado de no arrastrar las partículas paramagnéticas.
3. Sin sacar la placa del soporte magnético, añadir 50 µl de AM1 a cada muestra. Sellar térmicamente la placa ASE. Agitar durante 20 min. a 1600 r.p.m.
4. Repetir el paso 6.3.
5. Sin sacar la placa del soporte magnético, añadir 50 µl de UB1 a cada muestra. Sellar térmicamente la placa ASE. Agitar durante 20 min. a 1600 r.p.m.

6. Repetir el paso 6.5.
7. Sacar la placa ASE del soporte magnético. Añadir 37  $\mu$ l de MEL a cada muestra. Sellar térmicamente. Agitar a 1600 r.p.m hasta la completa resuspensión de las partículas paramagnéticas.
8. Incubar 15 min. a 45°C. Almacenar a 4°C si se va a tardar más de 1 hora en seguir el protocolo.

## 5.2.4 Amplificación del producto de ligación

En este paso se llevó a cabo la amplificación de los fragmentos generados en el paso de extensión y ligación previo para aumentar las copias de las regiones seleccionadas utilizando tres cebadores universales contenidos en el reactivo MMP, proporcionado por Illumina Inc., donde dos de ellos están marcados con fluoróforos mientras que el tercero está biotilado.

Para la amplificación se siguieron los siguientes pasos:

1. Preparar la mezcla de amplificación añadiendo 64  $\mu$ l de DNA Polimerasa Titanium Taq a un tubo MMP para procesar 96 muestras.
2. Añadir 30  $\mu$ l de la mezcla de amplificación tantos pocillos como muestras se estén procesando en una placa MIDI (placa PCR). Sellar térmicamente la placa. Pulso de centrifuga a 250 g. Almacenar la placa protegida de la luz.

*Los cebadores están marcados con fluoróforos que en presencia de luz pierden su señal.*

3. Incubar la placa ASE en el soporte magnético mínimo durante 2 min. hasta que las partículas paramagnéticas estén completamente agregadas. Eliminar 50  $\mu$ l del sobrenadante.
4. Añadir 50  $\mu$ l de UB1 a cada muestra e incubar durante 2 min. sin sacar del soporte magnético.

- 
5. Eliminar el sobrenadante y sacar la placa del soporte magnético.
  6. Añadir 35  $\mu$ l de IP1. Sellar con una tapa adhesiva. Agitar a 1800 r.p.m hasta que las partículas estén completamente resuspendidas.

*IP1 permite separar el ADNg de las partículas paramagnéticas.*

7. Incubar a 95°C durante 1 min.
8. Incubar la placa en el soporte magnético durante 2 min. Transferir 30  $\mu$ l del sobrenadante a la placa PCR. Descartar placa ASE.
9. Sellar la placa PCR e introducir en un termociclador con el siguiente programa:

Temperatura	Tiempo	
37 °C	10 minutos	
95 °C	3 minutos	
95 °C	35 segundos	34 ciclos
56 °C	35 segundos	
72 °C	2 minutos	
72 °C	10 minutos	
4 °C	5 minutos	

## 5.2.5 Purificación del producto de PCR

La purificación del producto de amplificación se llevó a cabo mediante placas que contenían partículas paramagnéticas de estreptavidina, lo que permitieron la captura del producto de PCR mediante la unión del cebador biotinilado, añadido en el paso de amplificación, y la elución de la cadena que contenía la señal fluorescente.



1. Pulso de centrifuga a 250 g.
2. Añadir 20  $\mu$ l de MBP a cada muestra mezclando por pipeteo.
3. Montar la placa con los filtros en una placa de elución utilizando el adaptador intermedio y transferir 70  $\mu$ l a la placa con filtros.
4. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente y protegida de la luz.
5. Centrifugar a 1000 g durante 5 min. Descartar el eluido.
6. Añadir 50  $\mu$ l de UB2 a cada muestra. Centrifugar a 1000 g durante 5min.
7. Cambiar la placa de elución por una nueva (placa INT). Añadir 30  $\mu$ l de MH1 a cada muestra.
8. Añadir 30  $\mu$ l de NaOH 0.1N a cada muestra. Centrifugar a 1000 g durante 5 min. Descartar la placa con los filtros.

Las muestras procesadas se encuentran en la placa INT listas para hibridar el chip.

## 5.2.6 Hibridación de los chips

En este paso fue necesario el montaje de las cámaras de hibridación en las que incubamos los chips cargados con las muestras entre 16-18 horas.

1. Añadir 200  $\mu$ l de CHB a cada uno de los reservorios de la cámara.
2. Colocar los chips en cada uno de los adaptadores.

Para cargar los chips fueron necesario 15  $\mu$ L del producto eluido en el paso de purificación anterior. Con una pipeta multicanal y mucho cuidado se dispensó cada muestra en cada una de las ventanas de hibridación del chip (**Figura 9**).

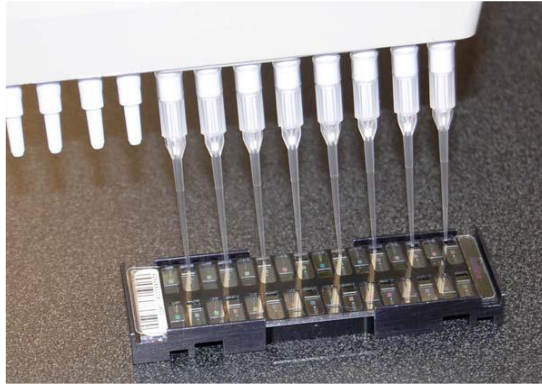


Figura 9. Dispensación de las muestras en el chip.

3. Incubar 30 min a 60°C.
4. Incubar a 45°C entre 16-18 horas con un ligero movimiento oscilatorio (velocidad 5).

Durante este paso de hibridación, el producto fluorescente de cadena sencilla generado en los pasos de amplificación y purificación previos se unió al soporte del chip en las regiones específicamente diseñadas para ellos.

El soporte del chip se encuentra recubierto de una serie de bolas ancladas covalentemente que contienen varias copias de sondas con la secuencia de la región seleccionada en el diseño del experimento. A estas sondas es donde se une nuestro producto de amplificación. (**Figura 10**).

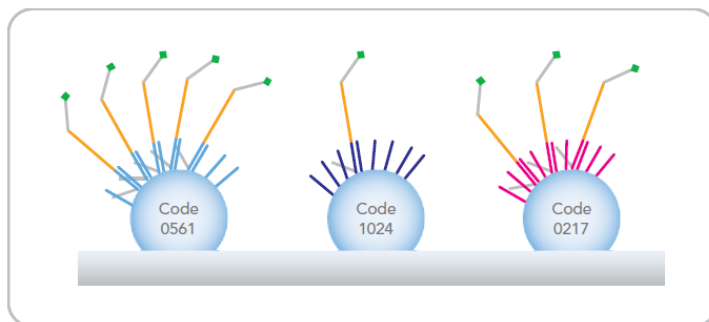


Figura 10. Esquema de hibridación del producto de amplificación en el chip.

Para evitar un posible “*Batch effect*” entre casos y controles, las muestras se distribuyeron aleatoriamente en todas las posiciones del chip y en todos los chips analizados.

## 5.2.7 Lavado de los chips

El siguiente paso fue el lavado de los chips para eliminar el exceso de muestra que no había hibridado.

Para ello fue necesario eliminar la capa protectora del chip (**Figura 11**) y varios pasos de lavado de los chips en un tampón de lavado y un paso final de recubrimiento con otro de los tampones proporcionados por Illumina Inc.

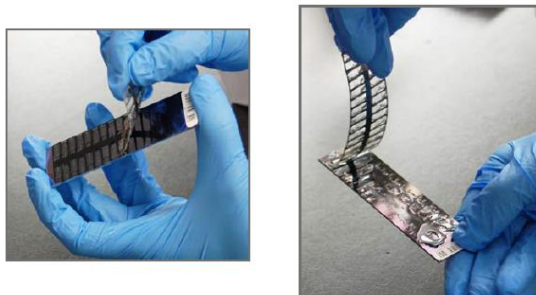


Figura 11. Paso de eliminación de la capa protectora del chip.

1. Preparar la estación de lavado con 3 recipientes para el lavado de chips, 2 con 300 ml de PB1 y uno con 300 ml de XC4.
2. Colocar los chips en el soporte para el lavado y lavarlos por inmersión arriba-abajo en el primer recipiente con PB1.
3. Pasar al siguiente recipiente con PB1 y dejar sumergido durante 5 min.
4. Pasar al recipiente con XC4, mover arriba y abajo 10 veces y sumergir durante 5 min.
5. Encender el equipo HiScan para que se establezcan los láseres.

- 
6. Incubar en el desecador al vacío durante 1 hora a una presión de 508 mmHg.
  7. Eliminar con etanol al 70% el exceso de XC4 precipitado del reverso del chip hasta que la superficie esté limpia y suave.

## 5.2.8 Escaneado de chips

Para el escaneado se usó el módulo de escaneado del equipo HiScan-SQ de Illumina Inc.

Los chips se colocaron de 4 en 4 en la bandeja de escaneado del equipo, y mediante la lectura de los códigos de barras incorporados en los chips se produce una correcta identificación de los mismos por parte del equipo y seguidamente se lleva a cabo el escaneado de todas las regiones.

Para la identificación de los polimorfismos en cada región escaneada fueron necesarios los archivos de coordenadas o DMAP suministrados por Illumina Inc.

El equipo posee dos láseres con longitudes de onda diferentes, los cuales permiten diferenciar entre un alelo y otro (**Figura 12**). El canal rojo lee las bases A/T y el canal verde las bases C/G, por ello hay que tener mucho cuidado en el diseño de los polimorfismos a estudiar dado que nos sería posible distinguir aquellos cuyos genotipos fueran AA-AT-TT o CC-CG-GG, dado que todos serían detectados por el mismo canal.

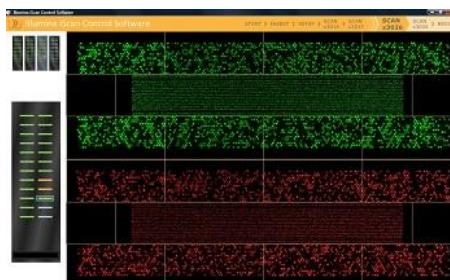


Figura 12. Escaneado de chips.

Como resultado del escaneado se obtuvo archivos con los datos de intensidades (.idat) para cada una de las regiones escaneadas (muestra). Para poder relacionar las regiones con las muestras fue necesario generar una “*Sample Sheet*” con la siguiente información:

Nombre de la columna	Descripción	Opcional u Obligatorio
Sample_ID	Identificación única de la muestra	Obligatorio
Sample_Name	Nombre de la muestra	Opcional
Sample_Plate	Identificación de la placa de procesado	Opcional
Sample_Well	Pocillo de la placa donde se encuentra la muestra	Opcional
SentrixBarcode_A	Código de barras del chip en el que se encuentra la muestra	Obligatorio
SentrixPosition_A	Posición dentro del chip donde se encuentra la muestra	Obligatorio
Gender	Género de la muestra: Male (hombre), Female (mujer), Unknown (desconocido)	Opcional
Sample_Group	En caso que la muestra pertenezca a algún grupo de análisis	Opcional
Replicate	Indicar el Sample_ID de la muestra de la que es replicado, si existen replicados	Opcional
Parent1	Indicar el Sample_ID de la muestra de la que es pariente	Opcional
Parent2	Indicar el Sample_ID de la muestra de la que es pariente	Opcional
Notes	Cualquier información adicional sobre la muestra	Opcional

---

## 5.3 Controles de calidad y asignación de genotipos

Mediante el programa GenomeStudio (Illumina Inc.), usando la “*Sample Sheet*”, los archivos de intensidades de cada región y los manifiestos donde se identificó a cada uno de los polimorfismos localizados en el chip y asignamos los distintos genotipos para cada una de las muestras y polimorfismos.

Para el estudio de los controles de experimento se inició el estudio por chip, generando un proyecto de GenomeStudio (Illumina Inc.) para cada uno de los chips procesados. Con estos controles comprobamos tanto el proceso como el estado de las muestras dado que analizamos Controles Independientes de Muestra (Control de hibridación secundaria) y Controles Dependientes de Muestra (Control de extensión alelo-específica, Control de género, Control de uniformidad de la PCR, Control de hibridación primaria y Control de Extensión). Los criterios utilizados fueron establecidos utilizando las guías de análisis de la casa comercial (143).

Analizando todos estos controles se eliminaron aquellas muestras que no cumplían con los requisitos de calidad mínimos para garantizar que la asignación de genotipos se hacía de forma correcta.

### 5.3.1 Control de hibridación secundaria

Este control es el único que proporciona información de la eficiencia del protocolo, independientemente de la calidad de la muestra. Testea la especificidad de la hibridación de determinadas sondas presentes en la superficie de los chips. **(Figura 13)**

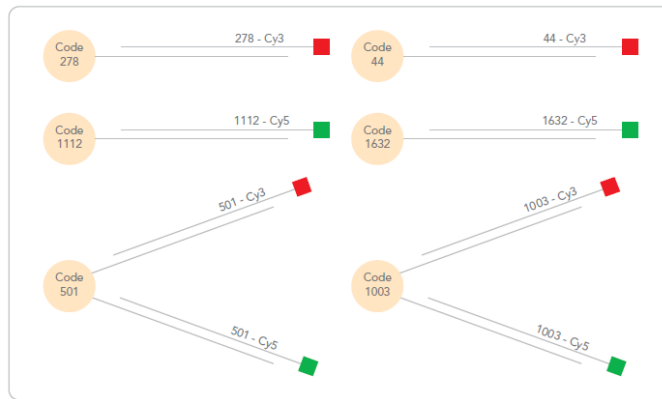


Figura 13. Esquema del Control de Hibridación Secundaria

### 5.3.2 Control de la Extensión del Alelo Específico

Este control comprueba la eficacia de la extensión de aquellas sondas unidas específicamente frente a las unidas inespecíficamente. Este control se prueba para las siguientes combinaciones: Guanina-Timina, Guanina-Guanina, Citosina-Citosina y Adenina-Adenina. Estas sondas de control están incluidas en el pool de sondas diseñado. Las sondas correspondientes a Adenina y Timina serán reconocidas por el canal rojo, mientras que las sondas correspondientes a las Guanina y Citosina serán reconocidas por el canal verde, condición que hay que tener en cuenta a la hora del diseño de las sondas.

(Figura 14)

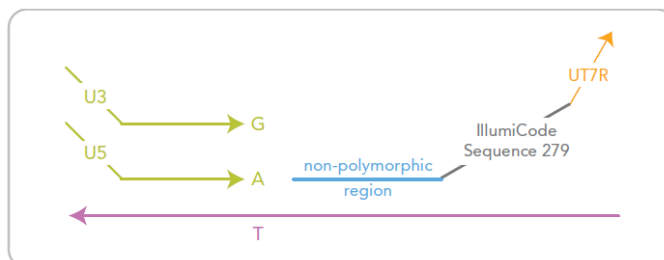


Figura 14. Esquema del control de Extensión del Alelo Específico G-T

### 5.3.3 Control de Uniformidad de PCR

Este control, por su parte, nos da información de la eficiencia de la reacción de PCR en regiones con alta concentración de AT y GC. Señales bajas en este control pueden indicar un problema durante la PCR o baja calidad de las muestras. (Figura 15)

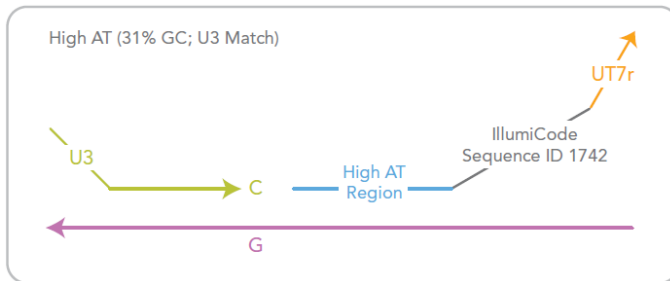


Figura 15. Esquema del control de Uniformidad de PCR.

### 5.3.4 Control de Hibridación primaria

Este control es un test sobre la especificidad de reconocimiento e hibridación de las sondas específicas de oligonucleótido (ASO) a diferentes temperaturas de "melting" ( $T_m$ ) para el mismo locus. Este control puede darnos una idea general de si el fallo se debe a un problema en el paso de extensión del alelo específico o a la baja calidad de la muestra. (Figura 16)

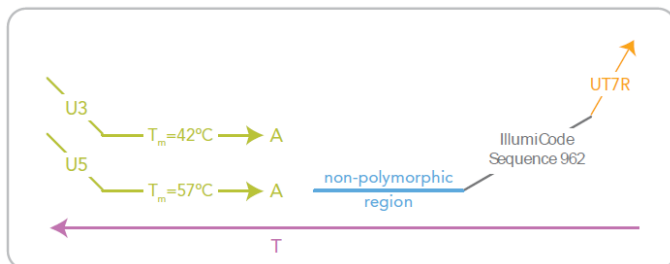


Figura 16. Esquema de los controles de Hibridación primaria



### 5.3.5 Control de Extensión

Este control testea la eficacia de la extensión en la base 15 (3'→5') del oligonucleótido específico de locus (LSO). Alteraciones en el patrón de este control están relacionadas con problemas en el procesamiento durante el paso de ligación y extensión o con la baja calidad de las muestras. (**Figura 17**)

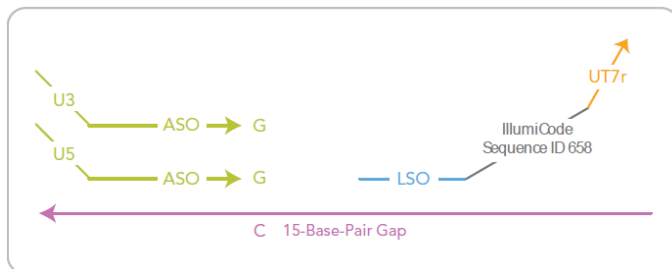


Figura 17. Esquema del Control de Extensión

---

# 6 Estudio de Validación en Población General: Estudio Di@bet.es

## 6.1 Diseño del Estudio

En vista de los resultados obtenidos del estudio con la población hipertensa mediante el sistema Illumina GoldenGate® Genotyping Assay, se decidió validar estos resultados en una nueva población general de mayor tamaño. En este caso se decidió validar estos resultados mediante secuenciación de nueva generación utilizando la plataforma MiSeq (Illumina Inc).

### 6.1.1 Selección de la Población de Estudio

Para este experimento se seleccionó la población del “Estudio Di@bet.es”.

El estudio Di@bet.es consta de 5.048 individuos de entre 18 y 93 años de la población española. Este estudio se realizó con el objetivo de conocer la prevalencia actual de los factores de riesgo cardiovascular, lo cual la convierte en la población ideal para el presente trabajo doctoral.

El reclutamiento de los individuos se realizó mediante una encuesta nacional en el periodo de 2009 y 2010. Utilizando un diseño aleatorio sobre la base de datos del Registro Nacional del Sistema de Salud Español, se seleccionaron los pacientes para obtener una muestra representativa de la población española. Para este estudio participaron 100 centros de salud de toda España, y en un primer momento se seleccionaron 100 individuos de cada uno de ellos, de modo que el tamaño de la selección ascendió a 10.000 individuos. Aproximadamente la mitad de ellos acudieron al examen inicial (55.8%), de los cuales el 9.9% fueron excluidos por presentar al menos uno de los criterios de exclusión establecidos para formar parte del estudio.

Los criterios de exclusión fueron la presencia de enfermedades graves, embarazo o parto reciente e instituto-nacionalización. Esto dejó la muestra final en 5.048 individuos con un 41.6% de hombres y un 58.4% de mujeres.

Los pacientes fueron invitados a una única visita en su propio centro de salud donde un entrevistador recogió la información en forma de cuestionario y seguidamente se le realizó un examen físico junto con la extracción de sangre periférica y un test de tolerancia oral a la glucosa.

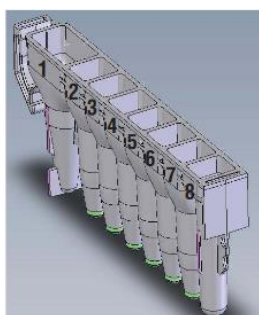
La información recogida en el cuestionario abarcó edad, género, nivel educativo, estado civil, situación laboral, hábito de fumar, dieta y actividad física, fue volcada a una base de datos junto con la información obtenida del examen físico y la procedente del análisis de sangre. Los datos obtenidos en el examen físico fueron el peso, la altura, el perímetro de la cintura, abdomen y cadera, medido mediante la metodología estándar, el IMC fue calculado siguiendo la ecuación peso en kilogramos dividido por la altura en metros elevada al cuadrado y la presión arterial fue medida mediante un monitor de presión arterial de la casa comercial Omron. Los valores obtenidos a partir de los análisis de sangre fueron los niveles de glucosa sérica, de triglicéridos y colesterol medidos enzimáticamente, HDL, y LDL medidos de forma directa, la insulina sérica fue medida mediante inmunofluorescencia y la resistencia a la insulina (HOMA-IR) fue medida siguiendo la ecuación: niveles de insulina sérica en ayunas (m-unidades/ml) multiplicado por los niveles de glucosa plasmática en ayunas (mmol/l) dividido entre 22.5. La EUA se midió mediante inmuniturbidimetría (BioSystems) y se midió tanto la creatinina como la ALB excretada. Se consideraron como microalbuminúricos aquellos pacientes que presentaban un valor de ACR  $\geq 30 \mu\text{g}/\text{mg}$  (144).

El “Estudio Di@bet.es” ha sido aprobado por los comités éticos y de investigación clínica de todas las comunidades autónomas y todos los participantes dieron su consentimiento informado.

---

### *Extracción del ADN a partir de sangre periférica*

Las muestras se recibieron en nuestros laboratorios en alícuotas de sangre periférica. El ADN se extrajo utilizando la tecnología Maxwell de Promega siguiendo las indicaciones de la casa comercial. Fue necesario llevar a cabo una incubación inicial con tampón de lisis y proteinasa K para degradar las proteínas presentes en la muestra y lisar las células, seguidamente se llevó a cabo la purificación mediante partículas paramagnéticas de sílice revestido, lo cual proporcionó una fase sólida móvil que optimizó la captura, el lavado y la elución del ADN. (**Figura 18**)



1. Tampón de unión
2. Partículas paramagnéticas
3. Solución de lavado
4. Solución de lavado
5. Solución de lavado
6. Solución de lavado
7. Vacío
8. Vacío

Figura 18. Contenido del cartucho para la extracción de ADN mediante la tecnología Maxwell de Promega Selección de Variantes de Estudio y Diseño de Cebadores

A partir de los resultados obtenidos del análisis de la población hipertensa se seleccionaron los 20 polimorfismos más estadísticamente significativos ( $p$ .valor sin ajustar menor a  $10^{-3}$ ) tanto en los análisis realizados para las variables EUA normalizada mediante el logaritmo y mALB categorizada. (**Tabla 7**).

Tabla 7. Listado de SNPs seleccionados y variables con las que se ha asociado previamente.

SNP	GEN	MAF	Localización	Variables Asociadas
rs3114317	CCDC146	0.34	intron	Malb y log UAE
rs2820950	KDM4C	0.15	intergenic	Malb
rs3108427	CCDC146	0.42	intron	Malb
rs4577579	lincRNA	0.32	intron	Malb y log UAE
rs3114316	CCDC146	0.34	intron	Malb
rs9875077	KALRN	0.09	intron	Malb
rs527081	URB2	0.29	intron	Malb y log UAE
rs877819	WDFY4	0.47	intron	Malb y log UAE
rs1323467	NR4A3/SEC61B	0.11	intergenic	Malb y log UAE
rs2252898	KRTAP15-1	0.44	intergenic	Malb
rs8061801	CDH13	0.42	intron	Malb
rs1993425	SFRP2/DCHS2	0.44	intergenic	Malb y log UAE
rs6972824	PTPRN2	0.17	intron	Malb y log UAE
rs374413	ZNF703/KCNU1	0.25	region regulatoria	Malb y log UAE
rs13232567	NPY/STK31	0.14	intergenic	Malb y log UAE
rs10486678	VPS41	0.33	intron	log UAE
rs9950398	APCDD1/VAPA	0.16	intergenic	Malb y log UAE
rs12322500	ERC1	0.17	intron	Malb y log UAE
rs10510377	GRM7	0.08	intergenic	log UAE
rs2259208	DSP	0.31	intron	Malb y log UAE

Se diseñaron los oligonucleótidos específicos para poder llevar a cabo la técnica seleccionada para la validación. Para ello se estableció que el tamaño de los fragmentos a diseñar entre 80pb y 280pb, con temperaturas de “melting” de entre 60 y 62 grados, se utilizó el software web Primer 3 v.0.4.0 (<http://primer3.ut.ee>) (145, 146) Las secuencias obtenidas fueron las indicadas en la **Tabla 8**.

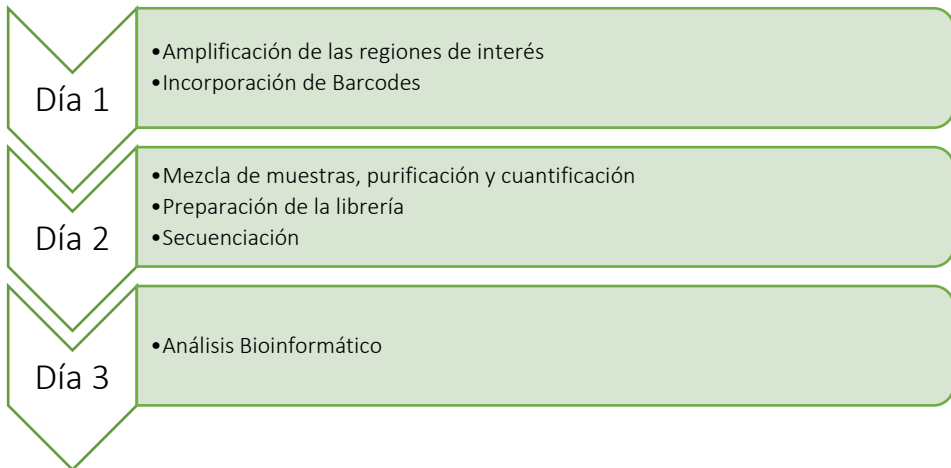
Tabla 8. Secuencia de los cebadores diseñados para la amplificación de fragmentos.

SNP	cebador 5'	cebador 3'
rs527081	GCCTGTTGTCCAGGCTTTTC	GGGTCCAGAAGTTTCTGATGG
rs10486678	CCACATAAAACAATGAACATATAAGCA	AAACTGTATTTTGAAGGCAAGTAATCA
rs3114316	TCCATATGCATGCCCGTATC	GCTCCCAGTTTACCACTGCATC
rs3114317	GGGGAGATGTGTAATATAATGTCAGG	CACCTTCTTCTTCATGCAGACC
rs3108427	TTGGGGCTGGGTAATCTAGG	CTGGAAACCCTTCCACCATC
rs8061801	TCATCTGGGGACCTTTTTCTG	TTCATAGGCCAGCAGGTGAG
rs2259208	TGCTCTAAGGGCCAGAACTTG	GTCTGTGAAGATTTGCCTCTCAC
rs12322500	TGAAAATTTTAAAGACGTTCTTC	CCTCACCTCTCCACTGAACC
rs10510377	TCTGATCCAGAGGTGTCACG	TCATTCATTTTTATGGCATTTCAC
rs1993425	TTAGGGCTTCAGCTGCTTC	AAGTGGCCCTCTTGGAG
rs13232567	GAATATGGGGCCAGAAAGG	CATTGCCCCAGATAGCAAAC
rs374413	TGGGGAGAGATGAAGTTTGTG	GGCTCCCTAGAATCCCTGTG
rs2820950	CATGTTAACGGCAGGGAATC	TTGCCCTTGTAGGATATTTGC
rs9950398	ACACCAACCTCTGCTCCAC	TGAAGGGACTTTGGCTGTGA
rs9875077	CCCAGTGAAGCCAAAATCAG	GCCTAAAAATATTGTTTGCAACCTG
rs4577579	AGGATTTGCAGAATTTGAAGG	TGTGATAGGCACCATGACATC
rs2252898	AAGTTGTTCCACCACACAGC	GAAAGTGCTGGGGGAACC
rs1323467	TGAAAGAAACCAGACACAAAACAATAC	TCACTAGAAAGCCCCTCATGC
rs6972824	CCTTGTAACCGCAATTGTCTGAG	AGGACGCAGTAGTGAGGATGG
rs877819	CTCTTGCCAATGCCCTTCTC	AAAAGCCACTTGGGACACCT

Debido a la técnica seleccionada, fue necesario incorporar a estas secuencias específicas una secuencia propia de la casa comercial Illumina Inc., la cual actuó como adaptador en los siguientes pasos del protocolo. Dentro de las distintas opciones proporcionadas por la casa comercial, nos decantamos por los adaptadores “Nextera”, cuya secuencia complementaria para los cebadores en 5' fue cola\_nextera\_5': 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3' y para los cebadores en 3' fue cola\_nextera\_3': 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'.

## 6.2 Metodología de Genotipado: Secuenciación mediante NGS

El flujo de trabajo fue el siguiente:



### 6.2.1 Amplificación de las regiones de interés

El primer paso del protocolo consistió en la amplificación de las regiones de interés mediante una PCR en multiplex. Los distintos cebadores diseñados para las 20 regiones seleccionadas se procesaron en una sola reacción en la que hibridaron con su secuencia complementaria del genoma dando lugar a un enriquecimiento de la muestra en estas regiones (**Figura 19**).

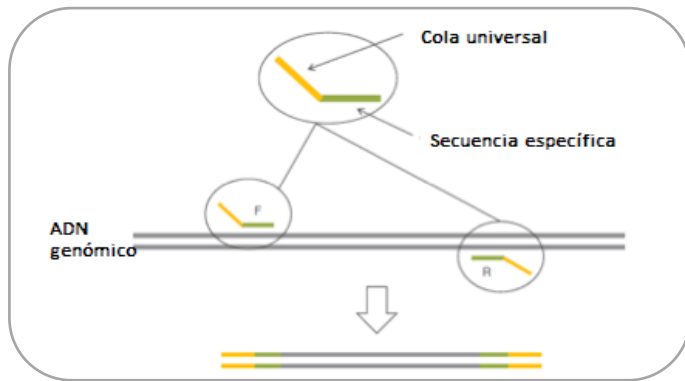


Figura 19. Esquema de la PCR para la amplificación de las regiones de interés.

Los pasos a seguir en este punto son:

1. Generar único pool de cebadores en las siguientes concentraciones finales: rs3114317 a 54.86 pM; rs10486678, rs12322500 y rs374413 a 48 pM; rs2259208, rs1993425, rs9875077 y rs527081 a 38.110 pM, rs3108427 y rs2820950 a 24.38pM; rs13232567 a 21.33 pM; rs3114316, rs877819, rs9950398, rs1323467, rs4577579 y rs2252898 a 18.29 pM; rs10510377 a 6.1 pM; rs8061801 a 5.33 pM y rs6972824 de 3 pM.
2. Preparar una mezcla de amplificación con las siguientes cantidades por muestra: 5  $\mu$ L de Multiplex de Qiagen N.V. (Hilden, Alemania), 2  $\mu$ L de Agua ultrapura y 1.5  $\mu$ L del pool de cebadores del paso 1.
3. Dispensar 8.5  $\mu$ L de la mezcla de amplificación a tantos pocillos como muestras se vayan a procesar.
4. Añadir 1.5  $\mu$ L de cada muestra a procesar.



5. Amplificar en un termociclador Veriti 384 (Applied Biosystem, Massachusetts, USA) con el siguiente programa:

Temperatura	Tiempo	
98 °C	15 minutos	18 ciclos
98 °C	30 segundos	
55 °C	2 minutos	
60 °C	2 minutos	
65 °C	1 minuto	
72 °C	1 minuto	
72 °C	20 minutos	
15 °C	∞	

## 6.2.2 Incorporación de Barcodes

Una vez amplificadas las regiones de interés, fue necesario identificar las muestras de forma inequívoca, para ello se realizó un segundo paso de amplificación en el cual se añadieron secuencias identificativas para cada muestra (*“barcodes”*), estas secuencias fueron proporcionadas por Illumina Inc. (**Figura 20**). Estas secuencias identificativas constaron de 8 nucleótidos, los cuales, combinándose entre sí permitieron la identificación de todas las muestras del estudio.

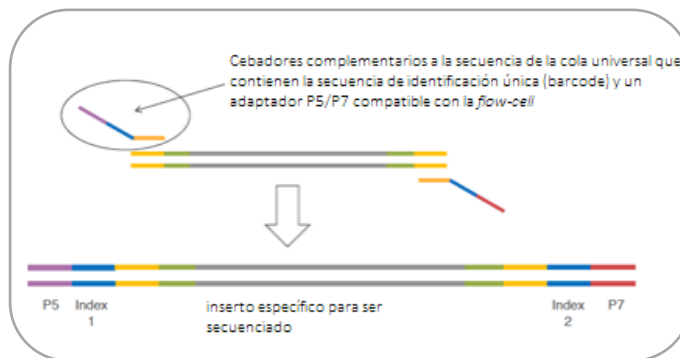


Figura 20. Esquema de incorporación de las secuencias identificadoras de las muestras

Los pasos fueron:

1. Diluir del producto de la PCR específica 1:5 en agua ultrapura

2. Preparar una mezcla de amplificación con las siguientes cantidades por muestra: 5  $\mu\text{L}$  de Multiplex de Qiagen N.V. (Hilden, Alemania), 2  $\mu\text{L}$  de agua ultrapura.
3. Dispensar 7  $\mu\text{L}$  de la mezcla de amplificación a tantos pocillos como muestras se vayan a procesar.
4. Añadir 2  $\mu\text{L}$  de la combinación de “*barco des*” seleccionados para cada muestra.
5. Añadir 1  $\mu\text{L}$  de la dilución del punto 1 de cada muestra a procesar.
6. Amplificar en un termociclador Veriti 384 (Applied Biosystem, Massachusetts, USA) con el siguiente programa:

Temperatura	Tiempo	
98 °C	15 minutos	
98 °C	20 segundos	30 ciclos
60 °C	30 segundos	
72 °C	90 segundos	
72 °C	10 minutos	
15 °C	$\infty$	

7. Verificación del proceso mediante electroforesis capilar en el sistema automático QiAxcel (Qiagen N.V, Hilden, Alemania)

### 6.2.3 Mezcla de muestras, purificación y cuantificación

Dada la cantidad de muestras empleadas en el estudio fue imposible tratarlas de manera individual, de modo que se optó por tratarlas como si todas presentasen el mismo rendimiento en los pasos de amplificación y se juntaron en un único pool de muestras.

1. Pasar 2  $\mu\text{L}$  de cada una de las muestras a un tubo de 15 ml para mezclarlas todas juntas.
2. Purificar mediante bolas magnéticas Agencourt® AMPure (Beckmann Coulter, California, USA) siguiendo las indicaciones del fabricante (147).
3. Cuantificar del producto purificado mediante fluorescencia con QuantiFluor® (Promega, Wisconsin, USA) según las indicaciones del fabricante (148).
4. Diluir la librería purificada hasta una concentración final de 4 nM.

## 6.2.4 Preparación de la librería

Para la preparación de la secuenciación mediante el sistema MiSeq, se estableció como situación ideal el obtener 100 lecturas por cada fragmento y muestra, para ello se realizaron una serie de cálculos mediante los cuales pudimos determinar la cantidad de librería a utilizar en la reacción a partir de los valores de concentración obtenidos, el tamaño medio de la librería y el peso molecular, según se indica en el protocolo de la casa comercial (149).

El protocolo para la preparación de la librería fue el siguiente:

1. Diluir la librería purificada en un tubo de microcentrífuga de la siguiente manera:
  - 5  $\mu$ L de la librería a 4 nM.
  - 5  $\mu$ L de NaOH 0.2 N.
2. Agitar brevemente y centrifugar a 280 g durante 1 min.
3. Incubar 5 min, a temperatura ambiente.
4. Añadir 990  $\mu$ L de HT1.  
*Tendremos 1 mL de librería desnaturalizada a 20 pM.*
5. Diluir la librería desnaturalizada hasta una concentración de 8 pM.
  - 240  $\mu$ L de la librería a 20 pM.
  - 360  $\mu$ L de HT1.
6. Mezclar por inversión y dar un pulso de centrifuga. Guardar en hielo.
7. Añadir a un tubo nuevo de microcentrífuga las siguientes cantidades:
  - 2  $\mu$ L de la librería Phi a 10 nM.
  - 3  $\mu$ L de Tris-Cl, pH 8.5 con Tween 20 al 10%
8. Añadir 5  $\mu$ L de NaOH 0.2 N.  
*Tendremos 10  $\mu$ L de librería PhiX a 4 nM.*
9. Agitar brevemente y centrifugar a 280 g durante 1 min.
10. Incubar 5 min, a temperatura ambiente.
11. Añadir 990  $\mu$ L de HT1 al tubo.

12. Mezclar por inversión y dar un pulso de centrifuga. Guardar en hielo.

*Tendremos 1 mL de librería PhiX a 20 pM.*

13. Combinar la librería purificada con la librería de PhiX con las siguientes cantidades:

- 30  $\mu$ L de librería PhiX a 20 pM.
- 570  $\mu$ L de librería desnaturalizada a 20 pM.

14. Guardar en hielo hasta que se pueda cargar en el cartucho de secuenciación.

## 6.2.5 Secuenciación

La tecnología empleada en la secuenciación consistió en un paso de generación de clústeres mediante amplificación clonal seguido de una secuenciación por síntesis.

La librería hibridó con los adaptadores que se encuentran anclados de forma covalente a la celda de flujo o “flow-cell” mediante las secuencias P5/P7 incorporadas a la muestra a la vez que los “barcodes”. Seguidamente tuvo lugar la reacción de amplificación clonal generando moléculas ancladas a la superficie de la “flow-cell”, estas moléculas adquieren la forma de “puente” al hibridar el extremo libre con otro de los adaptadores anclados a la superficie (**Figura 21**).

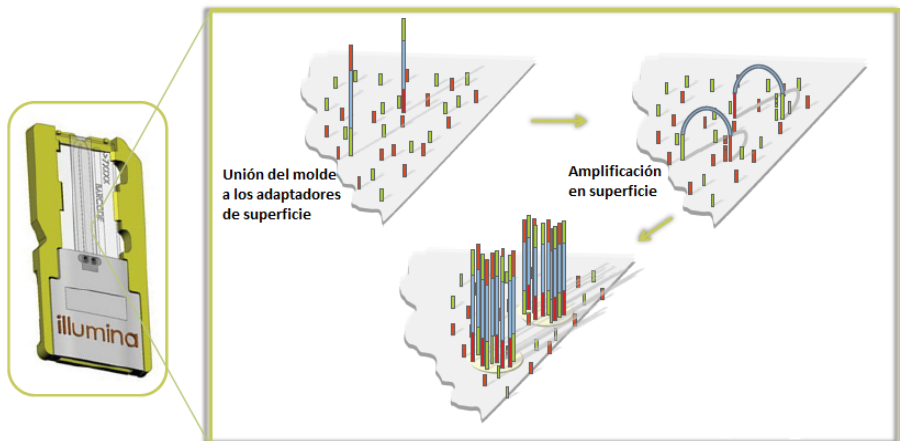


Figura 21. Esquema de del proceso de amplificación clonal llevada a cabo en el interior del equipo MiSeq de Illumina

Automáticamente, tras el paso de amplificación clonal, comenzó la secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina, ésta utiliza nucleótidos terminadores reversibles donde cada una de las bases está marcada con un fluoróforo diferente, lo cual permite su identificación por el sistema. La metodología implica la incorporación de una base, eliminación del exceso de nucleótidos no incorporados y la toma una imagen que más tarde será analizada por el sistema óptico del equipo, Finalmente se produce el desbloqueo del terminador incorporado en el ciclo, lo cual permite la adición de una nueva base comenzándose así un nuevo ciclo de secuenciación (**Figura 22**).

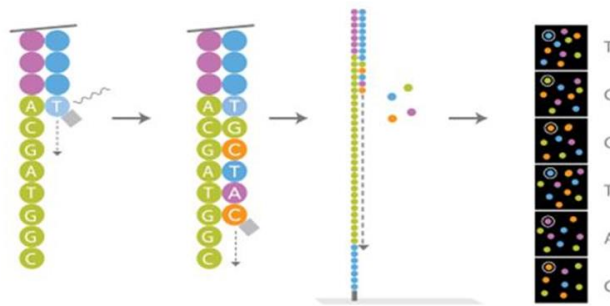


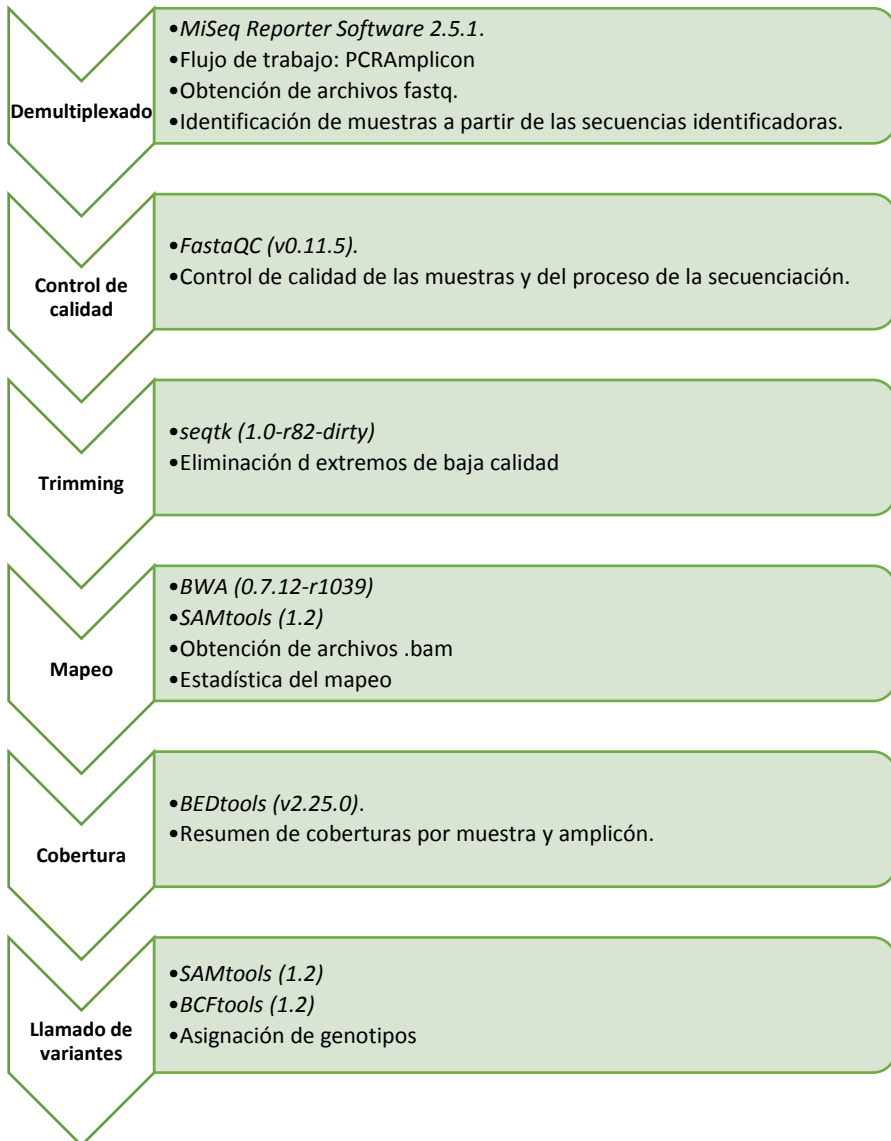
Figura 22. Esquema del paso de secuenciación por síntesis llevado a cabo por el equipo MiSeq de Illumina.

En nuestro caso nos decidimos a realizar una secuenciación *“paired-end”* mediante la cual nos sería posible la generación de lecturas en ambas direcciones a partir de cada una de las hebras amplificadas en el paso anterior. Debido al tamaño de los fragmentos generados decidimos utilizar los kits de Illumina de 300 ciclos, esto supone la secuenciación de 150pb en cada una de las direcciones, siendo esto suficiente para cubrir la posición de nuestros polimorfismos de interés en todos los fragmentos.

---

## 6.3 Análisis Bioinformático

Para el análisis bioinformático de los datos generados por el sistema MiSeq, se utilizó el siguiente “*pipeline*” con ayuda de la Unidad de Bioinformática del Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA:



### 6.3.1 Demultiplexado

Una vez finalizada la secuenciación en el sistema MiSeq, automáticamente el *Miseq Reporter Software 2.5.1* (MSR) llevó a cabo un análisis inicial donde se produjo el demultiplexado de las muestras, es decir, se identificó de forma inequívoca que secuencia corresponde a cada una de las muestra basándose en la lectura de los barcodes que se habían incorporado durante el procesado de las muestras, siguiendo el protocolo *PCRAmplicon* de Illumina, y la eliminación de la secuencia adptadora (CTGTCTCTTATACACATCT) especificada en la *sample sheet* utilizada durante el experimento. El resultado final de este paso fueron los archivos .fastq donde quedó almacenada la información de la secuencia, así como la información de la calidad de cada una de las bases incorporadas durante la secuenciación. Se generaron 2 archivos .fastq por cada una de las muestras, cada uno de ellos se corresponde con cada una de las direcciones en las que se ha leído el amplicón (R1 y R2), por lo que el número total de archivos es el doble del número de muestras procesadas.

### 6.3.2 Control de calidad

Sobre los archivos .fastq, obtenidos en el paso anterior, mediante la herramienta bioinformática *FastaQC* (v0.11.5) (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), se evaluaron diferentes parámetros que nos darían información de la calidad de las secuencias y del proceso de secuenciación:

- Estadística Básica: Devuelve una tabla que contiene información del .fastq como el nombre del archivo, cantidad de lecturas analizadas y si existen secuencias marcadas por tener baja calidad.
- Calidad de la secuencia por base: muestra la calidad para cada una de las bases de la secuencia analizada utilizando diagramas de cajas para que nos hagamos a la idea

---

de las variaciones que se han producido a lo largo de la secuencia. Se basa en el “*Phred score*” (medida de calidad en la identificación de las bases incorporadas durante la secuenciación), aquellas bases con un valor superior a 28 de “*Phred score*”, se considerarán como buenas (área verde), bases con valores entre 20-28 tendrán que considerarse con cautela (área naranja) y bases con valores de “*Phred score*” inferiores a 20 serán consideradas malas (área roja). La situación ideal sería que todas nuestras bases se localicen en la región verde del gráfico.

- Evaluación de la calidad de la secuencia: representa la calidad media de la lectura. En el eje de las Y nos muestra el número de secuencias y en el de las X se muestra el valor de “*Phred score*”. Un valor de *Phred score* de 30 indica un error de 1 base en cada 1000, con una exactitud del 99.9%. Secuencias con un valor de “*Phred score*” superior a 27 serán calificadas como buenas, por debajo de 20 quedarán marcadas como *warning* y con valores por debajo de 20 se considerarán malas.
- Porcentaje de N contenidas en la secuencia: este parámetro nos muestra el porcentaje de indeterminaciones que se han producido a lo largo de la secuencia. La situación ideal es que este parámetro sea de 0.
- Distribución de las longitudes de secuencia: con este parámetro simplemente observamos la longitud de cada una de las secuencias obtenidas para esa muestra. Este módulo nos dará “*warning*” en caso de que existe mucha variación en los tamaños de las lecturas, sin embargo, puede ser ignorado si sabemos que eso es algo normal para nuestros datos.

Existen otros parámetros que nos ofrece la herramienta *FastQC* que nosotros no tuvimos en cuenta al estar pensados para un estudio de genoma completo y que en nuestro caso saldrían como fallidos debido al enriquecimiento en las secuencias de los amplicones.

El comando genérico para llevar a cabo este paso fue:



```
$ fastqc $raw_fastq -o $out_path_preprocessed
```

Este comando se realizó de forma paralela para todas la muestras usando GNU parallel (150).

### 6.3.3 Trimming

Las lecturas obtenidas en los procesos de secuenciación presentan una menor calidad en los extremos, de modo que es recomendable llevar a cabo un depurado de los extremos o *trimming*. Para ello se utilizó la herramienta *seqtk (1.0-r82-dirty)* con la opción *trimfq* sobre los archivos .fastq como indica el siguiente comando:

```
$ seqtk trimfq $raw_fastq | gzip > $trimmed_fastq
```

Este depurado de secuencias utiliza los datos de calidad contenidos en los archivos .fastq para eliminar aquellos extremos con una ratio de error superior al 0.05 hasta un máximo de 30 pares de bases.

Tras la eliminación de los extremos de mala calidad de las secuencias, se repitió el análisis de calidad para comprobar la mejora de la misma utilizando el mismo comando que en el punto 3.3.2 y variando la ruta de los archivos generado para evitar la sobrescritura.

### 6.3.4 Mapeo

El siguiente paso que se realizó fue el mapeo de las secuencias de buena calidad en el genoma humano (GRCh37.p13). Para ello se utilizó la herramienta de Alineamiento de Burrows-Wheeler (BWA 0.7.12-r1039) (151) (<http://maq.sourceforge.net/>) utilizando su opción “*mem*”, el resultado fueron archivos .bam.

---

El comando genérico empleado para este paso fue el siguiente:

```
$ bwa mem -t4 -M -R $RGLINE $REFERENCE_GENOME $trimmed_fastq_R1  
$trimmed_fastq_R2 | samtools view -S -hb - > $out.bam
```

A continuación fue necesario ordenar las secuencias por cromosoma y posición, para ello se utilizó la herramienta *SAMtools* (1.2) (152) (<http://samtools.sourceforge.net/>) utilizando su opción “*sort*”.

```
$ samtools sort -T $temp.bam $in_bam -o $out_sorted.bam
```

### 6.3.5 Coberturas

Con las secuencias correctamente mapeadas y ordenadas, se realizó el estudio de la cobertura. A partir de los datos de localización cromosómica (**Tabla 9**), se analizaron la cantidad de lecturas que cubrían cada uno de los amplicones seleccionados. Para ello se utilizó el código de análisis desarrollado en nuestra unidad ([https://github.com/dapregi/amplicon\\_analysis](https://github.com/dapregi/amplicon_analysis)), que utiliza los parámetros del programa *BEDtools* (v2.25.0).

Tabla 9. Tabla con la localización cromosómica de los SNPs a analizar.

Amplicón	Chr	Inicio	Fin
rs527081	1	229917598	229917728
rs10486678	7	38781732	38782001
rs10510377	3	7965892	7965981
rs12322500	12	1211264	1211423
rs13232567	7	24009674	24009795
rs1323467	9	102095293	102095435
rs2252898	21	31819332	31819411
rs1993425	4	154824439	154824582
rs2259208	6	7574694	7574843
rs2820950	9	7260358	7260455
rs3108427	7	76884356	76884467
rs3114316	7	76882805	76882968
rs3114317	7	76882982	76883144
rs374413	8	37237203	37237357
rs4577579	4	19509444	19509577
rs6972824	7	157473192	157473283
rs8061801	16	83585276	83585410
rs877819	10	50042831	50042989
rs9875077	3	124073360	124073496
rs9950398	18	9967340	9967431

```
$ coverageBed -f $fraction_bed -F $fraction_bam -d -a $bed -b $bam
| grep -v \'^all\' > $out
```

### 6.3.6 Llamado de variantes

Finalmente, se realizó el llamado de variantes. Con los archivos .bam correctamente ordenados, utilizando de nuevo el programa *SAMtools* (1.2), en este caso su opción “*mpileup*” y el programa *BCFtools* (1.2)(<https://samtools.github.io/bcftools/bcftools.html>), con su opción “*consensus-caller*”, se obtuvieron los archivos .vcf. Los archivos vcf contienen el genotipo de todas las posiciones localizadas en los archivos .bam y que tienen más de 1 lectura de cobertura, independientemente de si conlleva variación o no. Posteriormente, se extrajeron únicamente los genotipos de las posiciones de los polimorfismos de interés. El código genérico para este paso fue el siguiente:

---

```
$ samtools mpileup -d 10000 -t DP,DP4 -C50 -E -f REFERENCE_GENOME  
-u $sorted_bam | bcftools call -c -O z -f GQ -o $out.vcf.gz
```

Para asumir un correcto llamado de variantes se establecieron como límites que la posición de interés tuviera un mínimo de 10 lecturas para esa posición (DP) y que la calidad del genotipado (GQ) fuera superior a 90, es decir, la probabilidad de que la variante identificada se corresponda con el genotipo real.

## 7 Análisis Estadístico de los Datos

### 7.1.1 Estadística General

Las variables cuantitativas están expresadas como media  $\pm$  desviación estándar (sd) y como porcentajes las variables cualitativas, para ellos se empleó el paquete de análisis estadístico SPSS versión 22.0 (IBM). Se comprobó la normalidad de las variables cuantitativas usando los test de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks y se observó que algunas no seguían una distribución normal, fue el caso de la EUA, la cual se normalizó mediante una transformación logarítmica de los datos (log\_EUA).

### 7.1.2 Estudios de Asociación de Polimorfismos

Para los análisis de asociación básicos se utilizó la herramienta informática PLINK v1.07 (153), mediante la cual se llevaron a cabo test alélicos estándar usando el test Chi-cuadrado con un grado de libertad o el test exacto de Fisher en el caso de las variables fenotípicas cualitativas. Los análisis de asociación entre los polimorfismos y las variables fenotípicas se evaluaron comparando las frecuencias genotípicas y alélicas entre los grupos de casos y controles. Se utilizaron aquellos individuos que presentaban más de un 90% de genotipado

Este software permitió incluir varios test para evaluar la asociación bajo los distintos modelos genéticos como fueron:

- Test de tendencia de Cochran-Armitage, este test no asume que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), toma como unidad de análisis al individuo y no el alelo.
- Test genotípico con dos grados de libertad, es el análisis genotípico general que asume la distribución caso-control en función de su genotipo.

- Test de acción génica dominante con un grado de libertad, este test estudia la asociación asumiendo la dominancia del alelo minoritario.
- Test de acción génica recesiva con un grado de libertad, este test estudia la asociación asumiendo el carácter recesivo del alelo minoritario.

Si consideramos A como alelo minoritario y a como alelo mayoritario, las comparaciones serían las siguientes:

Modelo genético	Comparaciones
Test de tendencia de Cochran-Armitage	A vs a
Test genotípico	AA vs Aa vs aa
Test de acción génica dominante	(AA, Aa) vs aa
Test de acción génica recesiva	AA vs (Aa, aa)

La información obtenida mediante estos análisis incluyó el valor del estadístico de Chi-cuadrado, los grados de libertad del análisis para ese polimorfismo y el p-valor, así como el número de individuos que presentaban cada uno de los genotipos establecidos por el modelo o en el caso del modelo alélico el número de cada alelo presente en la población de estudio.

Este análisis no permitía la incorporación de covariables relacionadas con las variables fenotípicas de interés y por tanto se recurrió a las regresiones logísticas y lineales.

En los estudios de regresión se incluyeron las covariables más importantes relacionadas con los valores de ALB en orina: edad, sexo del individuo, índice de masa corporal (IMC) y presión arterial sistólica (PAS), DM2 y ratio de filtrado glomerular estimado (eGFR). Se calculó el coeficiente Beta de regresión en el caso de las variables cuantitativas y el “*Odds Ratio*” (OR) para las cualitativas con su correspondiente intervalo de confianza y su p-valor para todos los polimorfismos incluidos en el estudio.

De entre los diferentes test de ajuste que proporciona el software se consideró el ajuste por Bonferroni como la mejor opción ya que reducía el número de falsos positivos. A pesar de no ser necesario debido al diseño del estudio, se mantuvo la corrección por Bonferroni como medida de seguridad (154).

### 7.1.3 Estudio de Desequilibrio de Ligamiento y Asociación Haplotípica

Se denomina haplotipo a la combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos. Normalmente la metodología de análisis genético no permite identificar los haplotipos directamente por lo que estos se deben calcular recurriendo a los métodos de estimación de haplotipos, como el algoritmo EM (Expectation Maximization algorithm) o los métodos Markov Chain Monte Carlo.

Para determinar el desequilibrio de ligamiento, se calculó el valor del estadístico D, que es la desviación entre la frecuencia del haplotipo esperado (bajo el supuesto de no asociación) y la frecuencia observada. Aunque resulta más útil obtener el parámetro de D', que es el valor escalable al rango [-1,1] del estadístico D, y el coeficiente de correlación entre los alelos ( $R^2$ ). Estos datos fueron obtenidos gracias al programa SNPstats (155) y Haploview (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>) (156)

Las inferencias de haplotipos y sus frecuencias, a partir de los genotipos obtenidos de cada individuo de las poblaciones estudiadas fueron realizadas mediante Haploview. Por otro lado, los análisis de asociación con las variables respuestas como HTAe o mALB categorizada fueron calculados tanto con Haploview como con el programa SNPstats mediante regresión logística. El riesgo de cada haplotipo se compara con el haplotipo de referencia.





# Resultados

---



Los resultados del trabajo se presentan en función de los estudios realizados. En primer lugar, se muestran los resultados de asociación con las variables relacionadas con la mALB de la replicación de los resultados del GWAS de nuestro grupo en una población hipertensa, seguido de los resultados del estudio en población general donde se buscó la validación e identificación de polimorfismos asociados en el paso previo.

## 8 Estudio en Población Hipertensa

### 8.1 Características generales de la población

La población de estudio empleada en esta parte del estudio está formada por un total de 910 individuos diagnosticados de hipertensión y que no estaban bajo tratamiento con antihipertensivos en el momento de su inclusión en el estudio, de los cuales 464 (50.9%) son varones y 437 (47.9%) mujeres. En la **Tabla 10** se muestran las características clínicas de la población agrupada según de la presencia/ausencia de diagnóstico de microalbuminuria clasificada en función de si presentan valores de EUA inferiores a 30mg/día (normoalbuminúricos) o superiores a este valor (microalbuminúricos y macroalbuminúricos), siendo 20 (2.2%) los individuos macroalbuminúricos. Del total de la población, 37 individuos (4%) carecen de datos de EUA. La información relativa a los datos de creatinina en orina no está disponible para el total de la población y por tanto no se puede calcular la ACR. Debido a esto, se ha decidido realizar los análisis de las diferentes poblaciones de esta tesis con los datos normalizados de la EUA.

Tabla 10. Características clínicas de la población de estudio.

Características	Normoalbuminuricos (N = 716)	Microalbuminuricos Macroalbuminuricos (N=157)
Sexo (% H/M)*	53.9/46	42/58
Edad (años)	54.94 ± 16.60	53.23 ± 16.47
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28.73 ± 4.85	29.99 ± 5.45
PAS (mmHg)*	142.94 ± 17.64	147.23 ± 20.67
PAD (mmHg)*	85.17 ± 11.86	87.56 ± 14.1
Colesterol Total (mg/dL)	205.94 ± 40.40	202.89 ± 40.71
LDL	118.70 ± 32.90	110.58 ± 33.30
HDL	52.13 ± 14.55	49.31 ± 14.91
Triglicéridos	158.76 ± 115.53	169.19 ± 107.48
Glucosa (mg/dL)	102.13 ± 24.98	110.58 ± 29.76
Diabetes Mellitus tipo 2 (%)	9.5	15.9
UAE (mg/24h)*	7.92 ± 12.08	242.26 ± 732.86

Valores son media ± desviación estándar.\*: p-valor menor de 0.05 para la diferencia entre normoalbuminuricos y micro/macroalbuminuricos . IMC: Índice de Masa Corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. EUA: Excreción Urinaria de Albúmina, LogEUA: Logaritmo de la Excreción Urinaria de Albúmina. Diabetes mellitus: Glucemia ≥ 126 mg/dL o estar bajo tratamiento antidiabético.

## 8.2 Controles de calidad y asignación de genotipos

Antes de poder asignar los genotipos ha sido necesario comprobar los controles de calidad asociados a la calidad de las muestras y a la calidad del proceso. Se comprobaron individualmente los chips para determinar para cuáles de ellos el protocolo no ha funcionado correctamente y por tanto determinar qué muestras deben ser eliminadas del análisis de genotipos.

### 8.2.1 Control de hibridación secundaria

El control de hibridación secundaria es el único control independiente de muestra y por tanto es el único que nos da información de la calidad de proceso. La situación óptima presenta tres frentes donde cada pareja de controles está convenientemente separada del resto.

Los controles obtenidos en el procesado de nuestros chips han sido dispares, predominando aquellos que se asemejan al apartado **a)** de la **Figura 23**, donde se aprecian algunas muestras con valores de R más bajos, pero que no indicarían una problemática grave en el procesado. Los chips con controles como los del apartado **b)** de la imagen son los que nos indican que algo ha sucedido durante el protocolo y que debemos descartar algunas muestras.

Las muestras con valores de R inferiores a 500 (recuadro rojo) son eliminadas del análisis. Con las muestras que presentan valores de R inferiores a 6.000 dado que se alejan de la normalidad en el control (recuadro naranja) se ha realizado un estudio más exhaustivo del resto de controles y finalmente se ha decidido conservarlas.

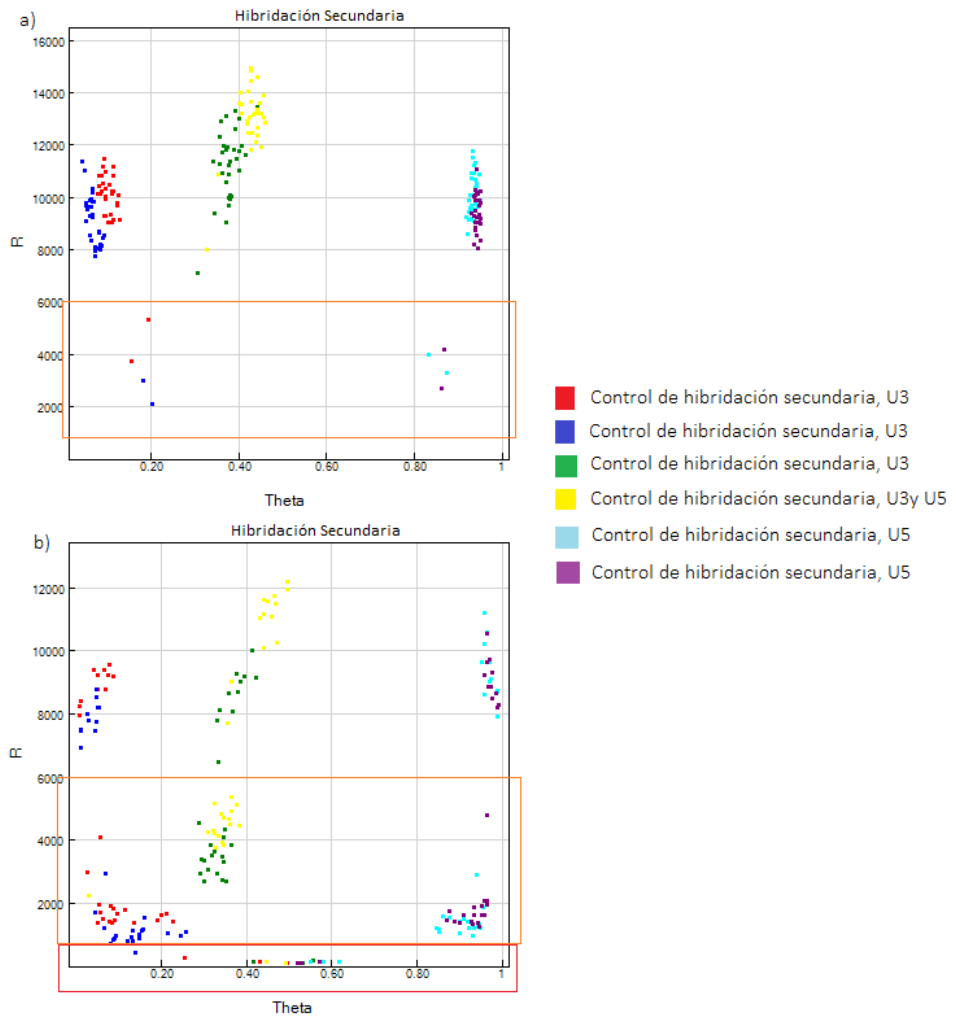


Figura 23. Comparación del Control de Extensión Alelo-Específica. **a)** Chip 761603067 donde todas las muestras presentan buena calidad, **b)** Chip 6924976124 donde aparecen muestras de baja calidad (recuadro rojo) que serán eliminadas del estudio y aquellas que requieren una evaluación más profunda (recuadro naranja)

## 8.2.2 Control de Extensión Alelo Específico

La situación ideal en la evaluación de este control muestra una clara diferencia entre los valores de theta agrupados por tipo de sonda (U3 y U5). La mayoría de nuestros chips presentaban una apariencia similar a la mostrada en el apartado **a)** de la **Figura 24**, donde se aprecia una marcada agrupación en función de la sonda, esta distribución es

considerada aceptable para continuar con el estudio. En el apartado **b)** de la imagen se muestra este mismo control en un chip donde se localizaron muestras de baja calidad y no se aprecia distinción alguna entre las uniones específicas e inespecíficas, esto se debe a que las muestras presentes en dichos chips no estaban en las condiciones óptimas requeridas para el estudio y por tanto debían ser eliminadas del estudio.

Siguiendo las indicaciones del fabricante, todas aquellas muestras con un valor de R inferior a 500 han sido eliminadas del estudio final (recuadro rojo)

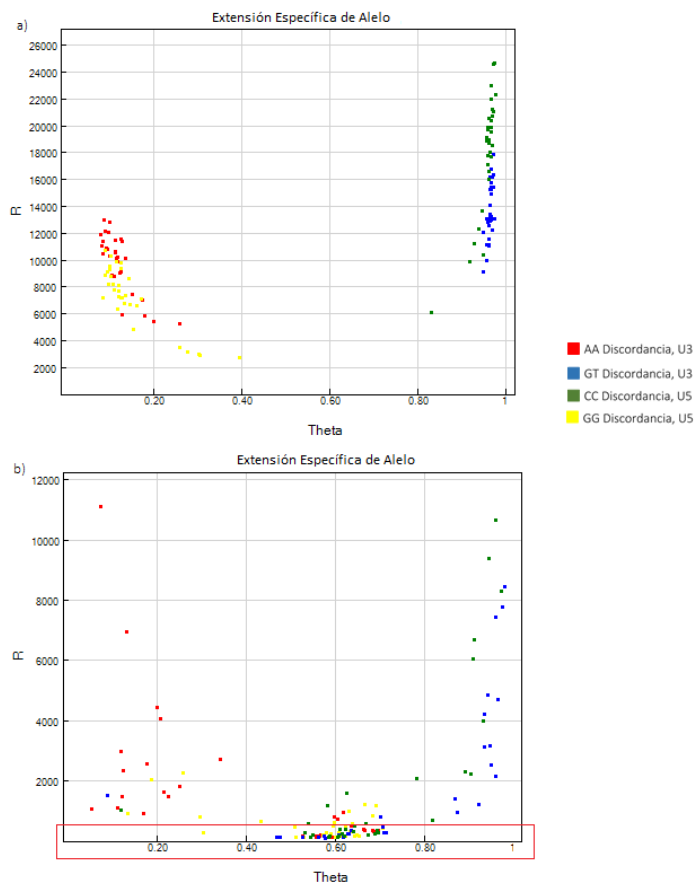


Figura 24. Comparación del Control de Extensión Alelo-Específica. **a)** Chip 761603067 donde todas las muestras presentan buena calidad, **b)** Chip 6924976124 donde aparecen muestras de baja calidad (recuadro rojo) que serán eliminadas del estudio

---

### 8.2.3 Control de Uniformidad de PCR

Comprobamos individualmente cada chip para evaluar el rendimiento y la eficiencia de la reacción de PCR para cada muestra contenida en cada uno de los chips. La situación ideal muestra una clara diferencia entre los valores de theta entre las regiones ricas en AT y las ricas en CG, mientras que la mayoría de nuestros chips presentaban una apariencia similar a la mostrada en el apartado **a)** de la **Figura 25**, esta distribución se consideró aceptable para continuar con el estudio, dado que no hay mezcla entre las regiones analizadas, a diferencia de lo que se observa en el apartado **b)** de la misma imagen, donde se aprecia mezcla de señales, por lo que no podemos afirmar que la PCR haya sido satisfactoria para las muestras contenidas en este segundo chip.

Todas aquellas muestras con un valor de R comprendido entre 0.4 y 0.6 fueron eliminadas del estudio siguiendo las recomendaciones del fabricante.



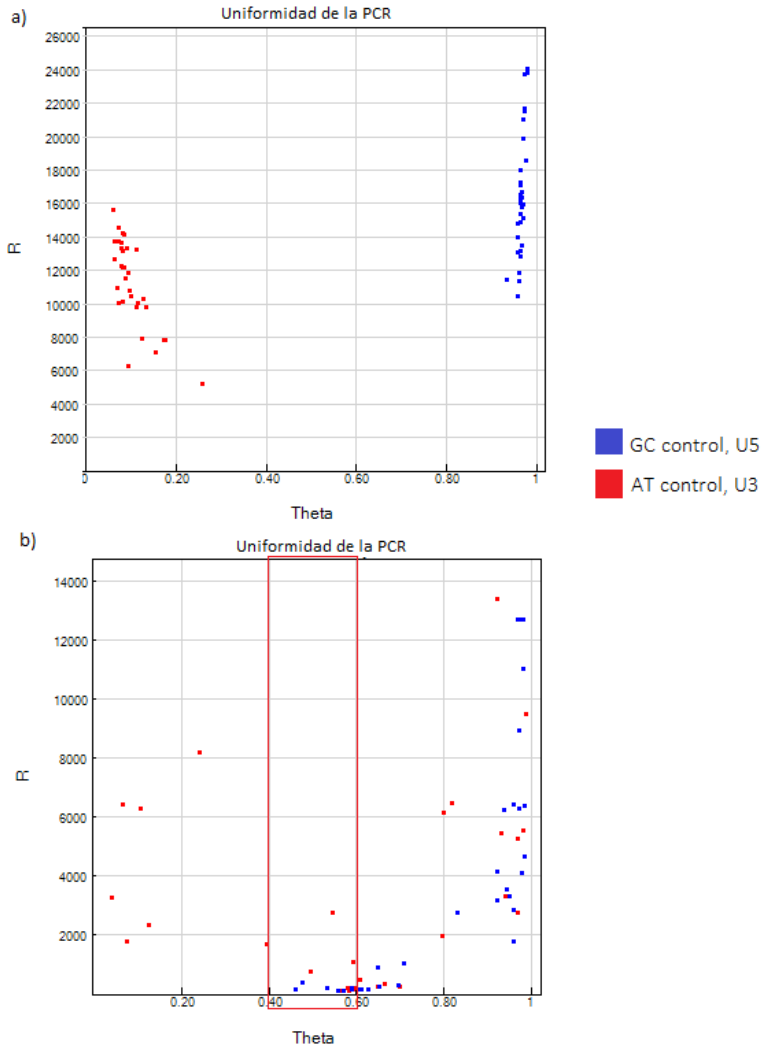


Figura 25. Comparación del Control de Uniformidad de PCR a) Chip 761603067 donde todas las muestras presentan buena calidad, b) Chip 6924976124 donde aparecen muestras de baja calidad (recuadro rojo) que serán eliminadas del estudio

## 8.2.4 Control de hibridación primaria

De igual manera que para los otros controles, todos y cada uno de los chips fueron revisados individualmente. La **Figura 26** nos muestra el "control dashboard" de algunos de los chips con las distintas situaciones con las que nos encontramos a lo largo

del experimento. En el apartado **a)** se puede ver un chip con un control prácticamente perfecto, a diferencia del apartado **b)** en el que observamos muestras con valores de R muy bajos. Las muestras con valores de R inferiores a 2000 han sido eliminadas del estudio.

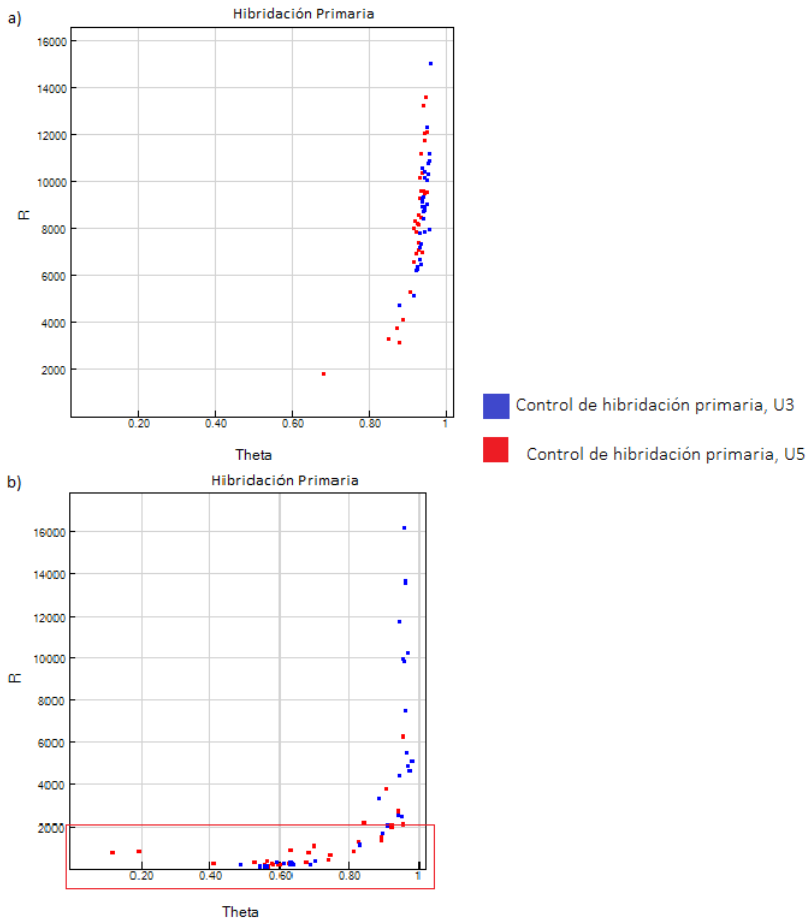


Figura 26. Comparación del Control de Hibridación Primaria a) Chip 761603067 donde todas las muestras presentan buena calidad, b) Chip 6924976124 donde aparecen muestras de baja calidad (recuadro rojo) que serán eliminadas del estudio.

## 8.2.5 Control de Extensión

En el apartado **a)** de la **Figura 27** podemos ver al patrón típico a observar para este control con todas las muestras agrupadas en el rango de 0.6-0.8 de Theta y con

valores de R elevados. Por otra parte, en el apartado **b)** vemos como las muestras de mala calidad presentan valores de R bajos y posicionamiento respecto a Theta muy dispar. Las muestras con valores de R inferiores a 1000 han sido eliminadas del estudio.

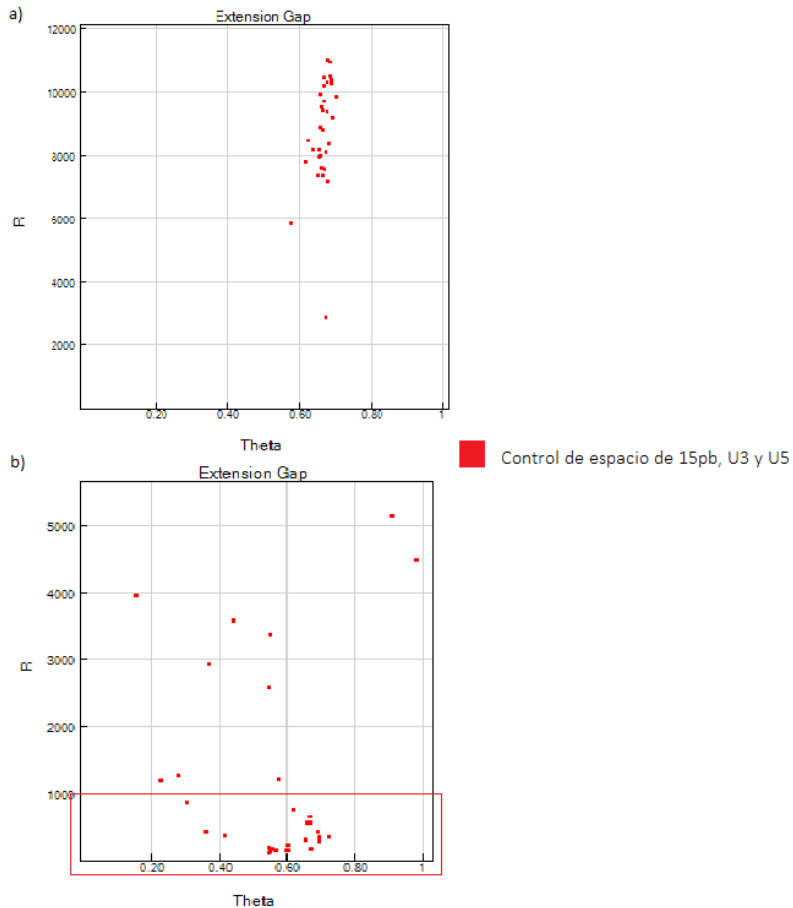


Figura 27. Comparación del Control de Extensión a) Chip 761603067 donde todas las muestras presentan buena calidad, b) Chip 6924976124 donde aparecen muestras de baja calidad (recuadro rojo) que serán eliminadas del estudio.

Como resultado final del análisis de la calidad de los diferentes chips empleados en el estudio, se eliminaron un total de 37 muestras por mala calidad de los resultados obtenidos, posiblemente por la gran fragmentación del ADN y/o su mal estado, pasando de 873 a 836.

---

## 8.2.6 Asignación de genotipos

Una vez depuradas las muestras en función de los controles de calidad, se llevó a cabo una comprobación visual de la calidad del genotipado de los 1536 polimorfismos analizados.

Algunas muestras presentaban asignaciones genotípicas en zonas de confusión para algunos polimorfismos y fueron consideradas como valor perdido para ese polimorfismo. (**Figura 28**)

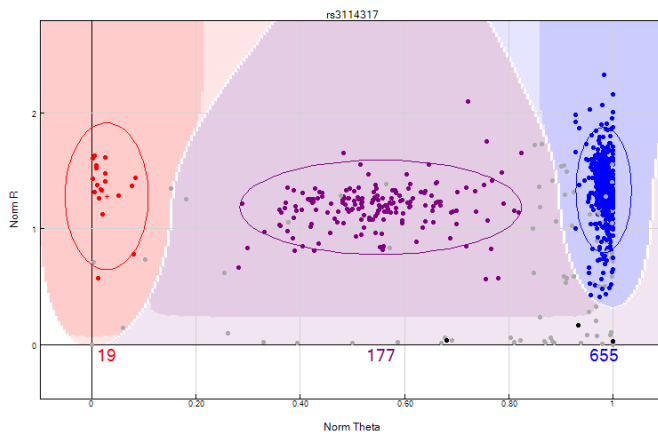


Figura 28. Ejemplo de asignación de genotipos por parte del software GenomeStudio de Illumina.

## 8.3 Estudio de asociaciones en Población Hipertensa

### 8.3.1 Filtrado de los datos

Para poder realizar los análisis se llevaron a cabo diversos filtrados, 88 polimorfismos y 114 individuos fueron eliminados por presentar un porcentaje de genotipado inferior al 90%, 13 polimorfismos presentaron un MAF inferior a 0.05 y también se eliminaron de los análisis, así como todos aquellos que no cumplieron el HWE (121 SNPs), quedando un total de 722 individuos y 1314 polimorfismos para el análisis.

### 8.3.2 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y valores de EUA en Población Hipertensa

#### 8.3.2.1 Análisis de asociación de polimorfismos individuales

Se llevó a cabo el estudio de asociación de los 1314 polimorfismos con la variable riesgo de presentar microalbuminuria y con los valores de EUA normalizados mediante transformación logarítmica.

En un primer momento, para realizar una aproximación se realizó el análisis utilizando la opción `--model` del software PLINK, en este caso, este análisis se llevó a cabo sin utilizar ninguna de las posibles variables de confusión (edad, género, IMC y PAS). Si se aplica la corrección de Bonferroni solo serían estadísticamente significativas aquellas asociaciones que presentaban un p.valor por debajo de  $3.80e-05$ . Únicamente el polimorfismo rs3114317 localizado en la región intrónica del gen CCDC146, en el cromosoma 7 citobanda q11.23, mostro una asociación estadísticamente significativa con el riesgo de mALB siguiendo esta corrección (**Tabla 11**).

Tabla 11. Asociación del rs3114317 con el riesgo presentar microalbuminuria bajo los diferentes test genéticos.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	MALB	No MALB	CHISQ	DF	P
7	rs3114317	CCDC146	A	G	ALLELIC	56/200	132/988	17.98	1	<b>2.23E-05</b>
7	rs3114317	CCDC146	A	G	TREND	56/200	132/988	17.73	1	<b>2.55E-05</b>
7	rs3114317	CCDC146	A	G	GENO	7/42/79	7/118/435	18.84	2	<b>8.11E-05</b>
7	rs3114317	CCDC146	A	G	DOM	49/79	125/435	14.05	1	1.79E-04

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Se realizó el estudio de asociación sin utilizar las posibles variables de confusión determinadas con anterioridad, tanto para el riesgo de microalbuminuria (Tabla 12), como para el valor normalizado de EUA (Tabla 13), para los diferentes modelos de herencia (aditiva, dominante o recesiva).

Tabla 12. Resultados con p.valor < 10<sup>-4</sup> de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar microalbuminuria (sin covariables)

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (IC 95%)	P	BONF
7	rs3114317	CCDC146	A	ADD	669	2.094 (1.471 - 2.980)	<b>4.08E-05</b>	0.054
9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	670	0.492 (0.333 - 0.728)	<b>3.89E-04</b>	0.511
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	668	1.805 (1.299 - 2.508)	<b>4.33E-04</b>	0.569
4	rs4577579	linRNA	G	REC	652	2.519 (1.501 - 4.227)	<b>4.67E-04</b>	0.614
7	rs3114316	CCDC146	G	ADD	667	1.865 (1.309 - 2.657)	<b>5.55E-04</b>	0.729
3	rs9875077	KALRN	G	REC	670	3.377 (1.689 - 6.751)	<b>5.74E-04</b>	0.755
1	rs527081	URB2	C	REC	669	2.148 (1.383 - 3.335)	<b>6.64E-04</b>	0.873
10	rs877819	WDFY4	G	REC	670	2.121 (1.372 - 3.279)	<b>7.20E-04</b>	0.946
5	rs2918417	NR3C1	A	ADD	670	1.691 (1.245 - 2.297)	<b>7.77E-04</b>	1
21	rs2252898	KRTAP15-1 KRTAP19-1	A	ADD	668	0.590 (0.434 - 0.803)	<b>7.93E-04</b>	1
21	rs2832892	KRTAP15-1 KRTAP19-1	G	ADD	668	0.598 (0.441 - 0.811)	<b>9.35E-04</b>	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	G	ADD	670	0.466 (0.296 - 0.734)	<b>9.72E-04</b>	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	670	2.671 (1.489 - 4.790)	<b>9.83E-04</b>	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni

Tabla 13. Resultados con  $p$ .valor  $< 10^{-4}$  de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de normalizados de EUA (sin covariables)

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (IC 95%)	P	BONF
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	667	0.238 (0.120 - 0.355)	<b>8.66E-05</b>	0.113
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	ADD	667	0.127 (0.062 - 0.192)	<b>1.47E-04</b>	0.194
7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	660	0.690 (0.326 - 1.055)	<b>2.26E-04</b>	0.295
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	666	0.124 (0.057 - 0.191)	<b>3.38E-04</b>	0.444
6	rs2259208	DSP	G	DOM	665	-0.169 (-0.263 - -0.076)	<b>4.17E-04</b>	0.544
12	rs12322500	ERC1	A	REC	668	0.327 (0.1426 - 0.511)	<b>5.36E-04</b>	0.699
7	rs13232567	NPY/STK31	A	REC	668	0.473 (0.200 - 0.746)	<b>7.36E-04</b>	0.961
2	rs1835437	SLC39A10	A	ADD	668	0.182 (0.077 - 0.287)	<b>7.39E-04</b>	0.971
4	rs4577579	linRNA	G	REC	652	0.254 (0.107 - 0.402)	<b>7.83E-04</b>	1
1	rs527081	URB2	C	ADD	667	0.116 (0.048 - 0.183)	<b>8.12E-04</b>	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	652	0.168 (0.070 - 0.267)	<b>8.72E-04</b>	1
1	rs9887831	FLJ35409/DPYD	A	REC	668	0.444 (0.183 - 0.706)	<b>9.21E-04</b>	1
13	rs4146405	KIAA0774	A	DOM	662	0.157 (0.065 - 0.250)	<b>9.38E-04</b>	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni

Ninguno de los polimorfismos analizados bajo estas condiciones alcanza el p.valor establecido como estadísticamente significativo según Bonferroni en su asociación con las variables relacionadas con la mALB.

Seguidamente se analizaron los mismos datos incluyendo las posibles variables de confusión determinadas, edad, género, IMC, PAS y DM2, los resultados pueden observarse en la **Tabla 14** para el riesgo de microalbuminuria y en la **Tabla 15** para los valores normalizado de EUA.

Tabla 14. Resultados con  $p$ .valor  $< 10^{-4}$  de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de microalbuminuria (covariado por edad, género, IMC, PAS y DM2)

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (IC 95%)	P	BONF
7	rs3114317	CCDC146	A	ADD	669	2.047 (1.419 - 2.952)	<b>1.26E-04</b>	0.165
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	G	ADD	670	0.417 (0.261 - 0.667)	<b>2.60E-04</b>	0.342
10	rs877819	WDFY4	G	REC	670	2.342 (1.482 - 3.703)	<b>2.70E-04</b>	0.355
7	rs3114316	CCDC146	G	ADD	667	1.897 (1.314 - 2.739)	<b>6.36E-04</b>	0.836
21	rs2252898	KRTAP15-1 KRTAP19-1	A	ADD	668	0.572 (0.414 - 0.790)	<b>6.99E-04</b>	0.919
9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	670	0.499 (0.334 - 0.747)	<b>7.26E-04</b>	0.954
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	668	1.794 (1.275 - 2.526)	<b>8.07E-04</b>	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	A	REC	670	3.334 (1.646 - 6.751)	<b>8.23E-04</b>	1
1	rs527081	URB2	C	REC	669	2.189 (1.382 - 3.468)	<b>8.41E-04</b>	1

CHR: cromosoma;GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni

Tabla 15. Resultados con  $p$ .valor  $< 10^{-4}$  de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de normalizados de EUA (covariado por edad, género, IMC y PAS)

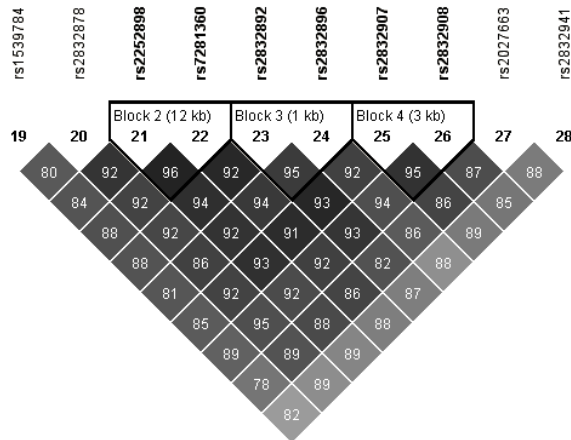
CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (IC 95%)	P	BONF
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	667	0.230 (0.112 - 0.348)	<b>1.49E-04</b>	0.195
6	rs2259208	DSP	G	DOM	665	-0.174 (-0.268 - -0.080)	<b>3.06E-04</b>	0.4
7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	660	0.661(0.298 - 1.024)	<b>3.89E-04</b>	0.508
12	rs12322500	ERC1	A	REC	668	0.326 (0.142 - 0.510)	<b>5.58E-04</b>	0.729
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	ADD	667	0.115 (0.049 - 0.181)	<b>6.42E-04</b>	0.843
2	rs1835437	SLC39A10	A	ADD	668	0.179 (0.074 - 0.283)	<b>8.84E-04</b>	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	652	0.172 (0.071 - 0.273)	<b>9.23E-04</b>	1
3	rs10510377	GRM7	G	DOM	667	0.177 (0.073 - 0.281)	<b>9.37E-04</b>	1
13	rs2350557	LOC144776	A	REC	666	-0.245 (-0.390 - -0.100)	<b>9.84E-04</b>	1

CHR: cromosoma;GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni

### 8.3.2.2 Análisis de asociación de haplotipos

Se llevó a cabo una búsqueda de haplotipos en los distintos cromosomas donde había varios poliorfismos asociacios y se realizó un estudio de asociación con el riesgo de presentar microalbuminuria y los valores de EUA siguiendo el mismo modelo de ajuste que para los polimorfismos individuales (edad, género, IMC y PAS): Únicamente se encontró asociación con tres hapotipos del cromosoma 21 para el riesgo de microalbuminuria (**Figura 29**).





Bloque	Nº	Haplotipo	Frecuencia		OR (IC 95%)	p-valor
			No MALB	MALB		
2	1	TG	0.603	0.642	1.00	
	2	AA	0.345	0.282	<b>0.70 (0.52 - 0.94)</b>	<b>0.019</b>
	3	AG	0.035	0.043	1.05 (0.54 - 2.05)	0.890
	4	TA	0.018	0.032	1.47 (0.66 - 3.28)	0.340
3	1	AA	0.574	0.630	1.00	
	2	GG	0.339	0.279	<b>0.68 (0.50 - 0.93)</b>	<b>0.015</b>
	3	AG	0.063	0.083	1.00 (0.60 - 1.68)	0.990
	4	GA	0.024	0.08	0.28 (0.07 - 1.19)	0.086
4	1	AA	0.619	0.668	1.00	
	2	CG	0.312	0.280	0.78 (0.59 - 1.05)	0.100
	3	CA	0.052	0.022	<b>0.28 (0.11 - 0.70)</b>	<b>0.007</b>
	4	AG	0.023	0.030	1.26 (0.556 - 2.82)	0.570

En los recuadros se aprecian los valores de D, colores más intensos se corresponden con mayor desequilibrio de ligamiento. OR(IC95%): Odd ratio (Intervalo de confianza 95%); P-valor < 0.05 se muestran en negrita

Figura 29. Mapa de desequilibrio de ligamiento y análisis de asociación entre los polimorfismos de la región 125867040 – 125882513 del cromosoma 21 (KRTAP15-1) y el riesgo de microalbuminuria.

---

# 9 Estudio de Validación en Población General: Estudio Di@bet.es

## 9.1 Características de la población

La población de estudio empleada para la validación de los resultados obtenidos en fases anteriores está formada por los pacientes del estudio Di@bet.es con un total de 4.785 individuos, de los cuales 2.046 (42.8%) eran varones y 2.740 (57.2%) mujeres. En la **Tabla 16** se muestran las características clínicas de la población agrupada en función de la presencia/ausencia de diagnóstico de hipertensión y si han recibido tratamiento para la misma. Del total de la población 582 individuos (12.2%) carecen de datos de EUA y ninguno presenta valores de EUA superiores a 300 mg/día.

En la tabla también se aprecia que los individuos hipertensos, tanto los tratados como los no tratados, presentan mayores valores de EUA y un mayor porcentaje de DM2, con respecto a los normotensos.

Tabla 16. Características clínicas de la población de estudio.

Características	Normotensos (n=2585)	Hipertensos No Tratados (n=1209)	Hipertensos Tratados (n=991)
Sexo (% H/M)*†‡	37.1/62.9	52.9/47.1	45.1/54.9
Edad (años)*†‡	41.73 ± 13.49	55.87 ± 15.84	66.42 ± 10.97
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )*†‡	26.34 ± 4.48	29.34 ± 5.09	30.86 ± 5.20
Obesidad (%)*†‡	18.4	38.5	51.1
PAS (mmHg)*†‡	118.80 ± 11.41	145.72 ± 16.98	147.73 ± 19.09
PAD (mmHg)*†‡	72.02 ± 7.75	83.57 ± 12.49	81.84 ± 10.32
Colesterol Total (mg/dl)*†‡	190.68 ± 39.00	204.99 ± 41.27	197.67 ± 38.39
LDL (mg/dl)*†‡	101.34 ± 29.39	111.57 ± 30.71	105.06 ± 28.22
HDL (mg/dl)*†‡	52.63 ± 12.69	51.55 ± 13.40	49.47 ± 12.50
Triglicéridos (mg/dl)*†‡	106.88 ± 84.47	133.29 ± 87.28	143.45 ± 93.68
Glucosa (mg/dl)*†‡	91.19 ± 18.26	103.72 ± 33.83	113.39 ± 39.68
Diabetes Melitus tipo 2 (%)*‡	2.79	10.59	20.38
UAE (mg/l)*†‡	8.95 ± 19.55	13.56 ± 27.96	18.40 ± 31.39
Microalbuminuria (%)*‡	5.24	11.12	15.81

Valores son media ± desviación estándar.\*: p-valor de la diferencia entre No Hipertensos e Hipertensos; †: p-valor de la diferencia entre Tratados de Hipertensión e Hipertensos; ‡: p-valor de la diferencia entre Tratados de Hipertensión y No Hipertensos. IMC: Índice de Masa Corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. EUA: Excreción Urinaria de Albúmina. Diabetes mellitus: Glucemia ≥ 126 mg/dL o estar bajo tratamiento antidiabético. Hipercolesterolemia: Colesterol-LDL ≥ 160 mg/dL o tomar medicación hipolipemiente.

## 9.2 Análisis Bioinformático de las Secuencias

### 9.2.1 Control de calidad

En el control de calidad realizado a todas las muestras se obtuvieron los datos para las 4.785 muestras procesadas para cada una de las direcciones de secuenciación.

En primer lugar, se obtuvieron los estadísticos básicos, un ejemplo de los resultados sería el mostrado en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Resultados del parámetro de estadísticos básicos para la muestra 100034.

Medidas	Valores
Nombre del archivo	100034_S4634:L001_R1-fastq.gz
Tipo de archivo	Convencional
Codificación	Sanger/Illumina 1.9
Secuencias totales	4614
Secuencias marcadas como baja calidad	0
Longitud de las secuencias	32-151
%GC	40

Una muestra de la información obtenida del parámetro “calidad de la secuencia por base” sería la reflejada en la **Figura 30**.

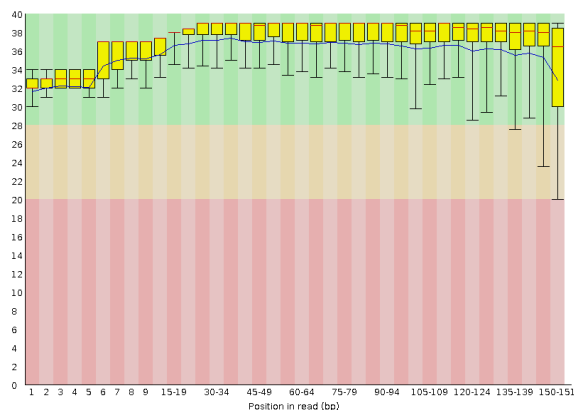


Figura 30. Resultados del parámetro calidad de la secuencia por base para la muestra 100034.

En el ejemplo mostrado, podemos ver que todas las bases de las secuencias analizadas para la muestra 100034 poseen una calidad óptima, únicamente en la parte final de la secuencia se observa una caída en la calidad de las mismas, problema que se solucionaría en el paso posterior de “*trimming*” en los casos en los que esta bajada en los valores de calidad implicase una tasa de error superior al 0.05.

Otro de los parámetros que se evaluó fue la calidad total de la secuencia, para ello el programa *FastQC* nos generó un gráfico como el que se muestra en la **Figura 31**.

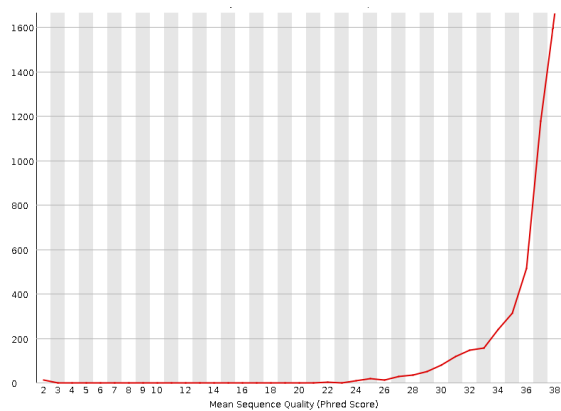


Figura 31. Resultados del parámetro puntuación de la calidad de la secuencia para la muestra 100034.

Según puede verse en la figura 31, para el caso de la muestra 100034 se observa que no existen lecturas con un *Phred score* inferior a 22 y que la mayor parte de las lecturas obtenidas presentan una calidad superior a 30.

La cantidad de indeterminaciones o problemas en la asignación de bases en la secuencia también nos devolvió un gráfico (**Figura 32**) en el que podemos observar que este contenido es del 0%, lo que nos indica que se ha identificado correctamente todas y cada una de las bases incorporadas durante el proceso de secuenciación.

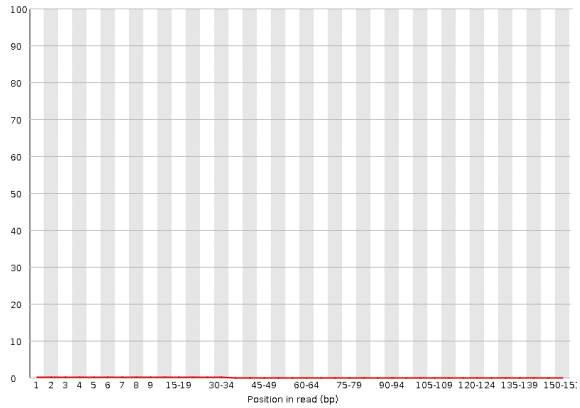


Figura 32. Resultados del parámetro porcentaje de N contenidas en la secuencia para la muestra 100034.

Finalmente, el último parámetro evaluado durante el control de calidad de las muestras fue la distribución de longitudes de las secuencias. En este caso, la longitud de los amplicones no era completamente homogénea, encontrándose amplicones con longitudes entre los 80 pb y los 270pb como se puede observar en la **Figura 33**.

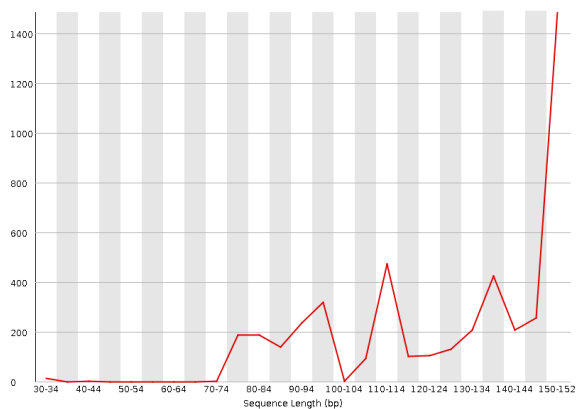


Figura 33. Resultados del parámetro distribución de las longitudes de secuencia para la muestra 100034.

Además de la obtención de las imágenes del control de calidad, se obtuvo un resumen con la evaluación de cada uno de los parámetros y su estatus de válido, revisable y fallido. Un ejemplo es el siguiente:

---

OK	Estadísticos Básicos
OK	Calidad de la secuencia por base
OK	Evaluación de la calidad de la secuencia
OK	Porcentaje de N contenidas en la secuencia
REVISABLE	Distribución de las longitudes de secuencia

Debido a la imposibilidad de revisar todas y cada una de las muestras, se llevó a cabo un resumen del control de calidad de todas las muestras para saber qué cantidad de muestras habían superado cada uno de los parámetros del control de calidad según se muestra a continuación:

9570	Estadísticos Básicos
9431	Calidad de la secuencia por base
9561	Evaluación de la calidad de la secuencia
9455	Porcentaje de N contenidas en la secuencia
9570	Distribución de las longitudes de secuencia

## 9.2.2 Trimming

El paso de “*trimming*” o depurado de los extremos de las secuencias en caso de ser necesario, modificó la información obtenida en el control de la calidad de los datos sin procesar únicamente en el parámetro de calidad de la secuencia por base.

9570	Estadísticos Básicos
9450	Calidad de la secuencia por base
9561	Evaluación de la calidad de la secuencia
9455	Porcentaje de N contenidas en la secuencia
9570	Distribución de las longitudes de secuencia

En el caso de nuestras secuencias, la calidad de las mismas ya era muy buena antes del depurado de los extremos y es por eso por lo que los parámetros de calidad analizados antes y después de este paso apenas varían.

## 9.2.3 Coberturas

Como resultado final del depurado de los datos obtenidos en el proceso de secuenciación, se obtuvo información tanto de la longitud de los fragmentos amplificados, la cobertura mínima y máxima de las bases del amplicón y del porcentaje del amplicón que superaba el 30X de cobertura que habíamos determinado como cobertura mínima deseada. Un ejemplo de los resultados obtenidos por muestra y amplicón se observan en la **Tabla 18**.

*Tabla 18. Ejemplo de informe de coberturas para la muestra 100034 en los 20 amplicones seleccionados para el estudio de validación*

Muestra	SNP	Longitud	Min	Max	%longitud amplicon 30x
100034	rs10486678	270	71	143	100
100034	rs10510377	90	172	177	100
100034	rs12322500	160	255	550	100
100034	rs13232567	122	35	37	100
100034	rs1323467	143	193	194	100
100034	rs1993425	144	189	196	100
100034	rs2252898	80	95	97	100
100034	rs2259208	150	76	78	100
100034	rs2820950	98	351	356	100
100034	rs3108427	112	362	369	100
100034	rs3114316	164	224	455	100
100034	rs3114317	163	70	143	100
100034	rs374413	155	63	126	100
100034	rs4577579	134	106	106	100
100034	rs527081	131	52	55	100
100034	rs6972824	92	283	303	100
100034	rs8061801	135	100	116	100
100034	rs877819	159	24	52	89.94
100034	rs9875077	137	343	347	100
100034	rs9950398	92	0	0	0

En el ejemplo mostrado en la **Tabla 18** se puede observar que 19 de los 20 polimorfismos estudiados en la validación obtuvieron la cobertura mínima deseada, y únicamente el rs9950398 falló para esa muestra. En general los datos obtenidos fueron similares para la mayor parte de las muestras.



## 9.2.4 Llamado de variantes

Una vez comprobada la cobertura del amplicón, se analizó la cobertura del polimorfismo a estudiar y se asignaron los genotipos. En la **Tabla 19** se muestra el ejemplo del informe para la muestra 100034.

*Tabla 19. Ejemplo de informe de asignación de genotipos para la muestra 100034 en los 20 amplicones seleccionados para el estudio de validación*

Muestra	SNP	Chr	Posición	ref	alt	GT	DP	GQ	Filtro (GQ>90/DP>10)	Genotipo
100034	rs527081	1	229917648	-	-	./.	-	-	-	-
100034	rs10486678	7	38781917	G	-	0/0	13	99	PASS	GG
100034	rs10510377	3	7965922	G	C	0/1	17	99	PASS	GC
100034	rs12322500	12	1211334	G	-	0/0	25	99	PASS	GG
100034	rs13232567	7	24009757	C	T	0/1	18	99	PASS	CT
100034	rs1323467	9	102095381	T	C	0/1	11	99	PASS	TC
100034	rs2252898	21	31819376	T	-	0/0	48	99	PASS	TT
100034	rs1993425	4	154824502	A	G	0/1	96	99	PASS	AG
100034	rs2259208	6	7574805	C	T	1/1	38	99	PASS	TT
100034	rs2820950	9	7260390	T	C	1/1	14	81	NO PASS	CC
100034	rs3108427	7	76884399	A	G	1/1	15	87	NO PASS	GG
100034	rs3114316	7	76882922	C	T	1/1	57	99	PASS	TT
100034	rs3114317	7	76883110	T	C	1/1	70	99	PASS	CC
100034	rs374413	8	37237302	A	-	0/0	63	99	PASS	AA
100034	rs4577579	4	19509525	C	G	0/1	13	99	PASS	CG
100034	rs6972824	7	157473222	C	-	0/0	36	99	PASS	CC
100034	rs8061801	16	83585376	A	G	0/1	50	99	PASS	AG
100034	rs877819	10	50042951	A	G	1/1	24	99	PASS	GG
100034	rs9875077	3	124073411	A	G	0/1	30	99	PASS	AG
100034	rs9950398	18	9967371	C	T	1/1	32	89	NO PASS	TT

Según se puede observar en la **Tabla 19** y comparándola con la información de la **Tabla 18**, no todos aquellos amplicones con una cobertura mínima aceptable darían lugar a un genotipo confiable como es el caso de los rs527081, rs2820950, rs3108427 y rs9950398.

Todos aquellos genotipos que no cumplieron con los parámetros de cobertura y calidad determinados fueron eliminados de la base de datos y anotados como datos perdidos para los posteriores análisis de asociación.

---

## 9.3 Estudio de Asociación en Población General

### 9.3.1 Filtrado de datos

Antes de realizar los análisis se realizaron diversos filtrados. De los 4.785 individuos que formaban el total de la población únicamente se obtuvo datos de secuenciación de 4.730 individuos. Se estableció como porcentaje óptimo de genotipado el 80% y siguiendo este criterio 1 polimorfismo y 592 individuos fueron eliminados del estudio. Por otra parte, ningún polimorfismo fue eliminado por presentar un MAF inferior a 0.05 o no cumplir el HWE (0.05), quedando un total de 4.138 individuos y 19 polimorfismos con un porcentaje medio de genotipado del 97.3% para el análisis.

### 9.3.2 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y variables relacionadas en Población General

Se llevó a cabo un análisis de asociación mediante PLINK utilizando el comando `--model` para realizar una aproximación a los posibles modelos genómicos con el riesgo de presentar mALB. (**Anexo 2**). Así mismo se llevaron a cabo los análisis de asociación sin incluir ningún factor de confusión para todas las variables relacionadas (**Anexo 3**)

Una vez evaluados los modelos genómicos se realizó el análisis de asociación incluyendo como variables de confusión edad, género, IMC, PAS, presencia de tratamiento antihipertensivo, presencia de DM2 y eGFR. Los resultados para el análisis de asociación con el riesgo de mALB se pueden ver en la **Tabla 20** y para los valores normalizados de EUA en la **Tabla 21**.

Tabla 20. Resultados de la asociación entre los polimorfismos y el riesgo de presentar mALB covariado por edad, género, IMC, PAS, tratamiento antihipertensivo, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3503	1.490 (0.940 - 2.361)	0.089
6	rs2259208	DSP	C	DOM	3371	0.808 (0.631 - 1.035)	0.092
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3515	0.818 (0.640 - 1.045)	0.108
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3508	0.549 (0.248 - 1.212)	0.138
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3153	0.538 (0.229 - 1.262)	0.154
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3504	1.194 (0.929 - 1.535)	0.166
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	3512	0.856 (0.664 - 1.105)	0.232
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3297	1.137 (0.893 - 1.449)	0.298
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3415	0.586 (0.211 - 1.629)	0.305
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	3514	1.345 (0.705 - 2.566)	0.369
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	3449	1.346 (0.685 - 2.648)	0.389
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3463	0.878 (0.651 - 1.184)	0.395
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3244	1.157 (0.824 - 1.624)	0.401
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3434	0.869 (0.607 - 1.245)	0.444
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3450	1.089 (0.843 - 1.406)	0.514
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3304	0.863 (0.537 - 1.386)	0.541
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	3430	0.920 (0.598 - 1.417)	0.707
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	3514	1.120 (0.577 - 2.175)	0.738
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3439	0.981 (0.732 - 1.315)	0.898

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 21. Resultados de la asociación entre los polimorfismos y los valores de log EUA covariado por edad, género, IMC PAS, tratamiento antihipertensivo, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3516	-0.049 (-0.089 - -0.009)	<b>0.016</b>
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	3505	0.057 (0.009 - 0.106)	<b>0.021</b>
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3504	0.082 (-0.004 - 0.169)	0.062
6	rs2259208	DSP	C	ADD	3372	-0.024 (-0.054 - 0.007)	0.127
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	3451	0.024 (-0.014 - 0.060)	0.214
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3154	-0.023 (-0.061 - 0.016)	0.246
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	3509	-0.021 (-0.057 - 0.015)	0.246
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	3513	-0.022 (-0.067 - 0.023)	0.332
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3435	-0.025 (-0.082 - 0.032)	0.381
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3440	0.018 (-0.030 - 0.066)	0.464
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3464	-0.017 (-0.065 - 0.032)	0.504
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3416	-0.044 (-0.176 - 0.087)	0.509
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	3305	-0.011 (-0.052 - 0.030)	0.598
7	rs10486678	VPS41	A	REC	3298	0.039 (-0.109 - 0.187)	0.603
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3245	-0.010 (-0.055 - 0.034)	0.647
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	3450	-0.015 (-0.138 - 0.107)	0.809
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	3431	-0.003 (-0.034 - 0.028)	0.853
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	3515	0.004 (-0.041 - 0.049)	0.875
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	3515	0.001 (-0.110 - 0.11)	0.985

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Ninguno de los 19 polimorfismos analizados presentó asociación con el riesgo de presentar mALB, tal y como se observa en la tabla.

Los resultados obtenidos para los valores normalizados de EUA mostraron asociación sin la corrección por Bonferroni de los polimorfismos rs2820950 (p.valor 0.016) y rs6972824 (p.valor 0.021) con los valores normalizados mediante la transformación logarítmica de la EUA bajo el modelo de herencia de dominancia del alelo minoritario.

Aunque existe una correlación significativa entre los valores de EUA y la ACR, se decidió analizar la asociación de estos polimorfismos con la ratio. Los datos que se obtuvieron fueron los mostrados en la **Tabla 22**.

*Tabla 22. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de ACR covariado por edad, género, IMC PAS, tratamiento antihipertensivo, DM2 y eGFR.*

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3503	3.242 (0.626 - 5.858)	<b>0.015</b>
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3243	2.491 (-0.134 - 5.117)	0.063
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	3511	-1.851 (-4.330 - 0.626)	0.143
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3507	-4.842 (-11.430 - 1.744)	0.150
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3462	-2.169 (-5.142 - 0.804)	0.153
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	3414	-1.643 (-4.009 - 0.723)	0.174
6	rs2259208	DSP	C	REC	3370	2.576 (-1.238 - 6.390)	0.186
7	rs10486678	VPS41	A	REC	3296	5.746 (-3.196 - 14.690)	0.208
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3152	-4.239 (-11.460 - 2.982)	0.250
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3502	2.989 (-2.196 - 8.174)	0.259
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3449	-1.219 (-3.832 - 1.394)	0.361
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	3429	-1.741 (-6.004 - 2.521)	0.423
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	3513	-0.876 (-3.116 - 1.364)	0.444
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3438	-1.032 (-3.999 - 1.936)	0.496
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	3448	-0.714 (-3.125 - 1.697)	0.562
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3514	-0.617 (-3.057 - 1.823)	0.620
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	3513	-0.687 (-3.436 - 2.062)	0.624
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3303	1.045 (-3.558 - 5.649)	0.656
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3433	-0.650 (-4.157 - 2.857)	0.717

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

En este análisis se mantiene la asociación sin ajuste del polimorfismo localizado en el gen *PTPRN2*, rs6972824 (p.valor 0.015), siguiendo en este caso un modelo de herencia aditiva.

También se analizó la población incluyendo los pre-microalbuminúricos (EUA > 15mg/24h) en el grupo de casos y se repitió el análisis sobre el riesgo de presentar microalbuminuria. (Tabla 23)

Tabla 23. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar *mALB* incluyendo los pre-microalbuminúricos covariado por edad, género, IMC PAS, tratamiento antihipertensivo, DM2 y *eGFR*.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3505	1.231 (1.021 - 1.484)	<b>0.029</b>
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3516	0.841 (0.701 - 1.009)	0.062
6	rs2259208	DSP	C	DOM	3372	0.858 (0.712 - 1.034)	0.107
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3504	1.337 (0.928 - 1.924)	0.119
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3451	1.154 (0.954 - 1.396)	0.140
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	3509	0.887 (0.751 - 1.047)	0.155
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	3515	0.872 (0.709 - 1.071)	0.192
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	3305	0.885 (0.735 - 1.065)	0.197
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	3515	0.874 (0.708 - 1.078)	0.208
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	3450	0.876 (0.709 - 1.083)	0.220
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3154	0.747 (0.424 - 1.316)	0.312
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3416	0.706 (0.359 - 1.390)	0.314
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	3431	0.858 (0.619 - 1.190)	0.360
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	3513	0.718 (0.347 - 1.489)	0.374
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3245	1.115 (0.862 - 1.443)	0.407
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3298	1.056 (0.861 - 1.295)	0.599
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	3440	1.045 (0.851 - 1.284)	0.672
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	3435	1.042 (0.860 - 1.263)	0.673
3	rs10510377	GRM7	C	REC	3464	0.832 (0.334 - 2.070)	0.693

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

El análisis con la categorización incluyendo a los pre-microalbuminúricos mantuvo la asociación del rs6972824 (p.valor 0.029) con el modelo aditivo.

---

### 9.3.3 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de ERC y valores de eGFR en Población General.

Se llevaron a cabo análisis de asociación con las variables relacionadas con el daño renal, enfermedad renal crónica (ERC) y ratio de filtrado glomerular estimada (eGFR).

Al igual que en el punto anterior, se llevó a cabo un análisis de aproximación mediante PLINK a los posibles modelos genómicos (**Anexo 2**) con la ERC y sin incluir factores de confusión (**Anexo 3**).

Dado que la ERC está muy influenciada por variables como la edad, el sexo, el IMC y otros factores de riesgo cardiovascular, se procedió al análisis incluyendo estos factores como posibles variables de confusión. (**Tablas 24 y 25**)

Pese a tratarse de dos variables muy relacionadas, no observamos asociación con los mismos polimorfismos. De los polimorfismos analizados, únicamente el rs13232567, localizado en las proximidades del gen *NPY*, presenta asociación con la ERC (p.valor 0.001) y se mantiene una vez ajustamos por Bonferroni (p.valor.ajustado 0.02), sin embargo, no muestra asociación con el eGFR (p.valor 0.109).

Tabla 24. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de ERC covariado por edad, sexo, IMC, PAS, tratamiento antihipertensivo y DM2.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3596	1.834 (1.277 - 2.635)	<b>1.03E-03</b>
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3978	2.136 (1.048 - 4.353)	<b>0.037</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	3899	1.421 (0.929 - 2.175)	0.105
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3905	1.343 (0.848 - 2.128)	0.209
7	rs10486678	VPS41	A	REC	3731	2.176 (0.589 - 8.039)	0.243
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3703	1.379 (0.802 - 2.372)	0.245
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3884	2.170 (0.571 - 8.253)	0.256
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	3987	0.439 (0.095 - 2.026)	0.292
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	3990	0.826 (0.544 - 1.253)	0.368
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3979	0.803 (0.497 - 1.299)	0.372
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	3921	1.482 (0.574 - 3.826)	0.417
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	3898	1.302 (0.662 - 2.563)	0.445
3	rs10510377	GRM7	C	REC	3935	0.265 (0.007 - 9.804)	0.471
6	rs2259208	DSP	C	REC	3823	0.808 (0.451 - 1.449)	0.475
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3990	0.871 (0.582 - 1.301)	0.499
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	3990	0.870 (0.572 - 1.323)	0.516
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	3916	0.621 (0.121 - 3.177)	0.567
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3750	0.834 (0.386 - 1.803)	0.645
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	3983	0.936 (0.618 - 1.417)	0.755

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 25. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el eGFR covariado por edad, sexo, IMC, PAS, tratamiento antihipertensivo y DM2.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3703	-1.371 (-2.816 - 0.074)	0.063
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	3935	-1.394 (-2.874 - 0.085)	0.065
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	3596	-1.185 (-2.632 - 0.262)	0.109
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3899	-1.464 (-3.339 - 0.412)	0.126
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	3921	-2.311 (-6.168 - 1.547)	0.241
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3750	1.342 (-1.073 - 3.757)	0.276
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	3987	-2.567 (-7.356 - 2.222)	0.294
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	3905	0.661 (-0.834 - 2.155)	0.386
7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	3979	-1.757 (-6.609 - 3.095)	0.478
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3990	0.406 (-0.908 - 1.719)	0.545
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3978	0.835 (-1.992 - 3.663)	0.563
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3884	-1.193 (-5.501 - 3.115)	0.587
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	3990	-1.057 (-4.903 - 2.789)	0.590
6	rs2259208	DSP	C	ADD	3823	0.269 (-0.728 - 1.264)	0.597
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	3916	0.365 (-1.118 - 1.848)	0.629
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3983	0.636 (-2.915 - 4.187)	0.726
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	3990	0.179 (-1.269 - 1.627)	0.809
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3731	-0.154 (-1.517 - 1.210)	0.825
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	3898	0.074 (-0.954 - 1.102)	0.888

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

### 9.3.4 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de HTAe y valores de PA en Población General

Para realizar una aproximación se llevó a cabo el análisis utilizando la opción *--model* del software PLINK (**Anexo 2**) y un segundo análisis sin utilizar ninguna de las posibles variables de confusión (**Anexo 3**).

Tras realizar estos análisis, se procedió al análisis de los datos utilizando las variables de confusión edad, género, IMC y la presencia de tratamiento antihipertensivo. Los resultados pueden observarse en la **Tabla 26** para el riesgo de hipertensión y en las **Tablas 27 y 28** para las presiones arteriales sistólicas y diastólicas.

*Tabla 26. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de hipertensión covariado por edad, género, IMC y tratamiento hipertensivo.*

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (IC 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4090	1.326 (1.112 - 1.582)	<b>0.002</b>
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	4031	0.583 (0.339 - 1.001)	<b>0.050</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	4024	0.616 (0.361 - 1.051)	0.075
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	4101	0.874 (0.744 - 1.026)	0.099
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3993	1.416 (0.863 - 2.323)	0.169
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	4006	0.888 (0.746 - 1.057)	0.180
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3856	0.814 (0.597 - 1.109)	0.192
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	4044	0.890 (0.736 - 1.076)	0.230
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	4100	0.911 (0.781 - 1.063)	0.235
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3809	1.152 (0.910 - 1.458)	0.240
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3698	1.091 (0.934 - 1.275)	0.272
3	rs9875077	KALRN	G	REC	4094	0.798 (0.507 - 1.257)	0.330
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3835	1.086 (0.900 - 1.310)	0.390
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	4006	1.074 (0.908 - 1.271)	0.402
6	rs2259208	DSP	C	REC	3932	0.901 (0.699 - 1.162)	0.423
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4098	1.070 (0.887 - 1.291)	0.479
12	rs12322500	ERC1	A	REC	4089	1.085 (0.768 - 1.533)	0.645
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	4101	1.022 (0.867 - 1.206)	0.792
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	4016	0.992 (0.823 - 1.196)	0.935

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita



Tabla 27. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y PAS covariado por edad, género, IMC y tratamiento hipertensivo.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
6	rs2259208	DSP	C	REC	3935	-2.125 (-3.613 - -0.637)	<b>0.005</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3701	0.863 (-0.064 - 1.791)	0.068
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	4104	-1.651 (-3.582 - 0.280)	0.094
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3812	1.152 (-0.251 - 2.555)	0.108
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3995	2.112 (-1.061 - 5.284)	0.192
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	4096	0.651 (-0.360 - 1.661)	0.207
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	3859	0.636 (-0.354 - 1.625)	0.208
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	4009	0.883 (-0.503 - 2.270)	0.212
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	4101	-2.165 (-5.674 - 1.344)	0.227
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	4093	0.708 (-0.469 - 1.885)	0.239
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	4091	-0.576 (-1.555 - 0.403)	0.249
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	4034	-0.500 (-1.399 - 0.401)	0.277
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	4027	-1.474 (-4.407 - 1.459)	0.325
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	ADD	4019	-0.293 (-0.990 - 0.403)	0.410
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3836	0.408 (-0.686 - 1.504)	0.465
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	4104	-1.004 (-3.799 - 1.791)	0.482
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	4009	-0.236 (-0.994 - 0.522)	0.541
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4103	-0.687 (-3.320 - 1.946)	0.609
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	4047	-0.128 (-1.301 - 1.045)	0.831

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 28. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y PAD covariado por edad, género, IMC y tratamiento hipertensivo.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	4027	2.895 (0.985 - 4.805)	<b>2.99E-03</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4103	2.590 (0.876 - 4.305)	<b>3.08E-03</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	4104	2.730 (0.9133 - 4.547)	<b>3.24E-03</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3701	1.690 (-0.171 - 3.551)	0.075
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	4034	-0.485 (-1.072 - 0.102)	0.106
6	rs2259208	DSP	C	REC	3935	-0.694 (-1.669 - 0.281)	0.163
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3859	-0.794 (-1.951 - 0.363)	0.179
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	4091	-0.358 (-0.995 - 0.278)	0.270
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	4009	-0.619 (-1.719 - 0.481)	0.270
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	4009	0.483 (-0.419 - 1.385)	0.294
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	4104	-0.624 (-1.881 - 0.633)	0.331
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	3995	0.297 (-0.316 - 0.909)	0.343
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3836	0.337 (-0.384 - 1.057)	0.360
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	4019	-0.327 (-1.044 - 0.388)	0.370
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	4101	-0.894 (-3.180 - 1.394)	0.444
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3812	-0.272 (-0.971 - 0.427)	0.445
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	4047	0.197 (-0.517 - 0.910)	0.590
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	4096	0.097 (-0.560 - 0.754)	0.772
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4093	0.052 (-0.626 - 0.730)	0.881

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

---

Varios de los polimorfismos analizados muestran asociación con las variables relacionadas con la HTA. Por una parte, el polimorfismo rs6972824 localizado en el gen *PTPRN2* presenta una asociación estadísticamente significativa con el riesgo de presentar HTAe que se mantiene una vez ajustamos por Bonferroni (p.valor.ajustado 0.033).

En las **Tablas 35 y 36** podemos observar la asociación sin ajustar de los polimorfismos rs2259208 con la *DSP* (p.valor 0.005) con un posible efecto protector y los tres polimorfismos seleccionados del gen *CCDC146*: rs3114317 (p.valor 0.003), rs3114316 (p.valor 0.003) y rs3108427 (p.valor 0.003)

## 9.4 Estudio de Asociación en Subpoblación Hipertensa

### 9.4.1 Características de la población

De los 1.209 individuos que presentaban un diagnóstico positivo de hipertensión y que no habían recibido tratamiento con antihipertensivos de la población original, de ellos se obtuvieron datos de genotipado de 1.070. Esta población está constituida por 568 hombres (53.1%) y 502 mujeres (46.9%), en la **Tabla 29** se presentan las características de la subpoblación hipertensa en función del diagnóstico de microalbuminuria.

Tabla 29. Características clínicas de la subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es.

Características	Normoalbuminuricos (N = 951)	Microalbuminuricos (N = 119)
Sexo (% H/M)*	52.4/47.6	56.3/43.7
Edad (años)*	55.47 ± 15.71	59.92 ± 15.88
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )*	29.17 ± 4.88	30.48 ± 6.11
Obesidad (%)	38.5	39.5
PAS (mmHg)*	145.25 ± 16.55	152.19 ± 18.55
PAD (mmHg)	83.55 ± 13.03	85.09 ± 10.65
Colesterol Total (mg/dl)	206.14 ± 41.34	204.55 ± 46.70
LDL (mg/dl)	112.60 ± 30.87	109.97 ± 33.01
HDL (mg/dl)	52.01 ± 13.60	50.13 ± 12.73
Triglicéridos (mg/dl)*	130.32 ± 84.30	149.10 ± 99.31
Glucosa (mg/dl)*	101.46 ± 29.06	119.81 ± 58.38
Diabetes Mellitus tipo 2 (%)*	9.0	22.7
UAE (mg/l)*	7.42 ± 7.38	76.84 ± 43.48

Valores son media ± desviación estándar. \*: p-valor de la diferencia entre Normoalbuminúricos y Microalbuminúricos. IMC: Índice de Masa Corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. EUA: Excreción Urinaria de Albúmina. Diabetes mellitus: Glucemia ≥ 126 mg/dL o estar bajo tratamiento antidiabético.

### 9.4.2 Filtrado de datos

De los 1.070 individuos hipertensos de los que se obtuvo información genotípica el 8.5% presentaban un porcentaje de genotipado inferior al 80% y se eliminaron del

---

estudio. Finalmente se analizaron 978 individuos en 19 polimorfismos, presentando tanto los individuos como los polimorfismos el 90% de tasa de genotipado de media y cumpliendo también con los parámetros determinados para el MAF (0.05) y el equilibrio de Hardy-Weinberg (0.05).

### 9.4.3 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de mALB y valores de EUA en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es

Al igual que en el resto de análisis, se procedió a un análisis exploratorio de la asociación de los polimorfismos con el riesgo de presentar mALB (**Anexo 4** y **Anexo 5**). Los resultados obtenidos no mostraban asociación estadística.

En la **Tabla 30** se muestran los resultados de la asociación de los polimorfismos analizados con la presencia de mALB covariado por las variables de confusión edad, género, IMC, PAS, DM2, eGFR. Se observa asociación con dos polimorfismos del gen *CCDC146*. De la misma manera que para la población general se analizaron también las asociaciones con log\_EUA (**Tabla 31**), ACR (**Tabla 32**) y pre-mALB (**Tabla 33**)

Tabla 30. Resultados de la asociación entre los polimorfismos y el riesgo de presentar mALB covariado por edad, género, IMC, PAS, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	4.725 (1.518 - 14.700)	<b>7.35E-03</b>
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	818	0.539 (0.307 - 0.942)	<b>0.030</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	835	3.283 (1.114 - 9.674)	<b>0.031</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	835	2.497 (0.877 - 7.111)	0.087
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	805	1.826 (0.896 - 3.720)	0.097
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	833	1.415 (0.902 - 2.220)	0.130
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	766	0.800 (0.554 - 1.155)	0.234
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	818	1.381 (0.812 - 2.347)	0.234
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	832	1.315 (0.825 - 2.096)	0.250
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	757	0.434 (0.098 - 1.933)	0.274
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	833	1.199 (0.829 - 1.735)	0.336
9	rs2820950	KDM4C	T	ADD	835	0.850 (0.584 - 1.239)	0.398
7	rs10486678	VPS41	A	REC	779	1.879 (0.387 - 9.128)	0.434
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	819	1.198 (0.733 - 1.956)	0.471
6	rs2259208	DSP	C	DOM	790	1.163 (0.716 - 1.887)	0.542
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	820	1.132 (0.694 - 1.845)	0.620
3	rs10510377	GRM7	C	REC	823	1.702 (0.194 - 14.930)	0.631
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	834	0.916 (0.546 - 1.539)	0.741
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	783	1.06 (0.7259 - 1.547)	0.764

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 31. Resultados de la asociación entre los polimorfismos y los valores de log EUA covariado por edad, género, IMC PAS, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	0.368 (0.062 - 0.674)	<b>0.019</b>
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	833	0.112 (0.009 - 0.215)	<b>0.033</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	835	0.267 (-0.009 - 0.542)	0.058
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	757	-0.200 (-0.427 - 0.026)	0.083
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	823	-0.091 (-0.199 - 0.016)	0.096
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	835	0.202 (-0.046 - 0.451)	0.112
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	835	-0.066 (-0.153 - 0.020)	0.134
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	805	0.113 (-0.039 - 0.266)	0.145
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	818	0.074 (-0.032 - 0.180)	0.173
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	818	-0.056 (-0.148 - 0.037)	0.239
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	779	-0.054 (-0.151 - 0.043)	0.276
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	832	0.047 (-0.043 - 0.137)	0.305
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	819	-0.138 (-0.436 - 0.160)	0.366
12	rs12322500	ERC1	A	REC	833	0.079 (-0.105 - 0.264)	0.399
6	rs2259208	DSP	C	DOM	790	-0.039 (-0.130 - 0.052)	0.402
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	834	0.121 (-0.205 - 0.447)	0.468
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	783	-0.022 (-0.095 - 0.052)	0.562
10	rs877819	WDFY4	G	REC	766	-0.026 (-0.149 - 0.097)	0.677
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	820	-0.018 (-0.109 - 0.073)	0.699

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 32. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de ACR covariado por edad, género, IMC PAS, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	833	6.196 (1.258 - 11.130)	<b>0.014</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	757	-12.240 (-25.040 - 0.570)	0.062
16	rs8061801	CDH13	A	REC	783	9.259 (-0.509 - 19.030)	0.064
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	832	4.653 (-0.278 - 9.585)	0.065
12	rs12322500	ERC1	A	REC	833	8.741 (-1.406 - 18.890)	0.092
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	818	-4.259 (-9.247 - 0.729)	0.095
7	rs10486678	VPS41	A	REC	779	15.510 (-3.799 - 34.810)	0.116
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	820	-4.980 (-11.890 - 1.932)	0.158
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	7.618 (-9.483 - 24.720)	0.383
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	819	-6.992 (-23.490 - 9.507)	0.407
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	835	3.583 (-5.713 - 12.880)	0.450
10	rs877819	WDFY4	G	REC	766	-1.959 (-7.282 - 3.365)	0.471
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	834	-1.957 (-7.280 - 3.366)	0.471
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	835	4.746 (-10.450 - 19.950)	0.541
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	818	-1.685 (-7.089 - 3.719)	0.541
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	835	3.808 (-9.919 - 17.540)	0.587
6	rs2259208	DSP	C	REC	790	-1.919 (-9.315 - 5.477)	0.611
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	823	-1.422 (-7.022 - 4.177)	0.619
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	805	-0.675 (-5.563 - 4.212)	0.787

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 33. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar mALB incluyendo los pre-microalbuminúricos covariado por edad, género, IMC PAS, DM2 y eGFR.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	833	1.537 (1.089 - 2.171)	<b>0.015</b>
9	rs2820950	KDM4C	T	ADD	835	0.754 (0.563 - 1.011)	0.059
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	835	1.827 (0.737 - 4.527)	0.193
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	818	1.305 (0.862 - 1.975)	0.209
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	835	1.880 (0.702 - 5.036)	0.210
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	1.907 (0.641 - 5.669)	0.245
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	805	1.418 (0.785 - 2.561)	0.248
6	rs2259208	DSP	C	ADD	790	0.861 (0.655 - 1.133)	0.285
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	766	0.864 (0.655 - 1.139)	0.299
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	818	0.884 (0.601 - 1.300)	0.532
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	832	1.119 (0.780 - 1.604)	0.542
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	ADD	820	0.924 (0.710 - 1.203)	0.556
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	757	0.909 (0.656 - 1.259)	0.565
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	783	0.907 (0.634 - 1.298)	0.594
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	833	1.068 (0.801 - 1.424)	0.653
3	rs10510377	GRM7	C	REC	823	0.655 (0.076 - 5.625)	0.699
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	819	1.065 (0.759 - 1.493)	0.717
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	779	1.052 (0.712 - 1.554)	0.801
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	834	1.030 (0.723 - 1.467)	0.870

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

---

Se observa en todos ellos asociación con el polimorfismo del gen PTPRN2.

#### 9.4.4 Asociación de marcadores genéticos con el riesgo de ERC y valores de eGFR en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es

Al igual que se hizo con la población general, se llevaron a cabo los análisis de asociación con el riesgo de presentar ERC y el parámetro eGFR en la subpoblación hipertensa, los análisis sin incluir las posibles variantes de confusión pueden verse en los **Anexos 4 y 5**.

En la **Tabla 34** podemos ver los resultados obtenidos para el análisis de la ERC covariado por edad, género, IMC, PAS y DM2. Se observa asociación estadística con el rs2252828 localizado en el gen *KRTAP15-1* (p.valor 0.034).

Por otro lado, en la **Tabla 35** se muestran los resultados obtenidos para la asociación con el eGFR. Se puede ver una asociación con el polimorfismo en la región intergénica de los genes *ZNF703* y *KCNU1*.

Tabla 34. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar ERC covariado por edad, sexo, IMC, PAS y DM2.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	926	2.975 (1.083 - 8.170)	<b>0.034</b>
10	rs877819	WDFY4	G	REC	865	2.515 (0.940 - 6.732)	0.066
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	910	0.452 (0.193 - 1.057)	0.067
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	940	0.463 (0.189 - 1.130)	0.091
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	878	0.506 (0.198 - 1.292)	0.155
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	940	0.525 (0.194 - 1.420)	0.205
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	943	0.254 (0.026 - 2.402)	0.232
12	rs12322500	ERC1	A	REC	941	2.068 (0.570 - 7.503)	0.269
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	922	0.609 (0.252 - 1.471)	0.271
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	925	3.468 (0.343 - 35.020)	0.292
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	924	0.663 (0.302 - 1.455)	0.306
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	943	0.610 (0.228 - 1.634)	0.326
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	883	0.735 (0.375 - 1.438)	0.369
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	943	0.672 (0.244 - 1.850)	0.443
6	rs2259208	DSP	C	REC	889	1.515 (0.517 - 4.429)	0.448
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	914	0.721 (0.256 - 2.028)	0.536
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	929	0.816 (0.298 - 2.238)	0.694
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	856	1.142 (0.470 - 2.770)	0.770
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	941	0.951 (0.410 - 2.202)	0.907

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 35. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el eGFR covariado por edad, sexo, IMC, PAS y DM2.

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	924	4.513 (1.663 - 7.362)	<b>1.97E-03</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	926	-3.721 (-7.551 - 0.108)	0.057
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	929	-2.189 (-5.289 - 0.911)	0.167
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	883	-1.381 (-3.579 - 0.816)	0.218
12	rs12322500	ERC1	A	REC	941	2.883 (-2.684 - 8.449)	0.310
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	856	3.499 (-3.670 - 10.670)	0.339
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	910	0.986 (-1.116 - 3.089)	0.358
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	940	1.191 (-1.554 - 3.936)	0.395
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	914	1.139 (-1.618 - 3.895)	0.418
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	943	-1.046 (-3.705 - 1.613)	0.441
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	940	-1.050 (-3.796 - 1.696)	0.454
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	943	0.855 (-2.211 - 3.921)	0.585
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	925	2.002 (-5.690 - 9.693)	0.610
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	878	-0.664 (-3.673 - 2.345)	0.665
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	865	-0.423 (-2.415 - 1.568)	0.677
6	rs2259208	DSP	C	REC	889	0.752 (-3.321 - 4.826)	0.718
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	943	1.120 (-6.700 - 8.939)	0.779
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	941	0.180 (-2.793 - 3.154)	0.905
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	ADD	922	-0.075 (-1.998 - 1.847)	0.939

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, p.valor < 0.05 en negrita



## 9.4.5 Asociación de marcadores genéticos con los valores de PA en Subpoblación Hipertensa del Estudio Di@bet.es

Los resultados obtenidos tras los análisis preliminares sin incluir las variables de confusión pueden verse en los **Anexos 4 y 5**.

En la **Tabla 36** se muestran las asociaciones obtenidas para la PAS en la subpoblación hipertensa. Para llevar a cabo estos análisis se incluyeron como covariables edad género, IMC y DM2, tanto para los análisis de PAS como de PAD (**Tabla 37**)

*Tabla 36. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y PAS covariado por edad, género e IMC*

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	968	-3.777 (-5.966 - -1.589)	<b>7.46E-04</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	971	2.620 (1.061 - 4.179)	<b>1.03E-03</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	941	2.496 (0.885 - 4.106)	<b>2.46E-03</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	971	2.234 (0.741 - 3.727)	<b>3.44E-03</b>
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	969	-1.296 (-2.578 - -0.013)	<b>0.048</b>
6	rs2259208	DSP	C	REC	917	-2.581 (-5.448 - 0.286)	0.078
10	rs877819	WDFY4	G	REC	890	2.282 (-0.387 - 4.950)	0.094
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	971	-1.612 (-3.497 - 0.274)	0.094
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	951	1.687 (-0.346 - 3.720)	0.104
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	938	-1.528 (-3.431 - 0.376)	0.116
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	883	1.605 (-0.452 - 3.662)	0.127
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	968	1.016 (-0.932 - 2.965)	0.307
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	910	-0.678 (-2.017 - 0.662)	0.322
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	969	-0.789 (-2.381 - 0.804)	0.332
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	957	0.861 (-0.984 - 2.705)	0.361
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	953	-0.904 (-2.884 - 1.076)	0.371
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	905	0.607 (-1.067 - 2.280)	0.477
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	952	0.498 (-0.972 - 1.968)	0.507
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	ADD	950	0.285 (-0.855 - 1.425)	0.624

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, . p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 37. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y PAD covariado por edad, género e IMC

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	941	13.340 (7.975 - 18.700)	<b>1.29E-06</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	971	10.780 (6.339 - 15.210)	<b>2.23E-06</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	971	11.790 (6.870 - 16.710)	<b>3.02E-06</b>
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	968	-1.992 (-3.611 - -0.373)	<b>0.016</b>
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	969	-1.739 (-3.335 - -0.143)	<b>0.033</b>
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	971	-1.048 (-2.626 - 0.531)	0.194
9	rs1323467	NR4A3 SEC61B	C	REC	969	-3.078 (-8.791 - 2.634)	0.291
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	910	-0.678 (-2.017 - 0.662)	0.322
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	957	0.970 (-0.992 - 2.932)	0.333
18	rs9950398	APCDD1 VAPA	T	DOM	952	0.726 (-0.976 - 2.428)	0.404
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	938	-1.184 (-4.008 - 1.639)	0.411
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	953	0.875 (-1.439 - 3.188)	0.459
3	rs9875077	KALRN	G	REC	968	1.705 (-2.853 - 6.264)	0.464
7	rs13232567	NPY STK31	T	REC	883	1.623 (-2.781 - 6.028)	0.470
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	905	0.607 (-1.067 - 2.280)	0.477
8	rs374413	ZNF703 KCNU1	C	DOM	951	0.610 (-1.099 - 2.319)	0.485
4	rs1993425	SFRP2 DCHS2	A	REC	950	0.664 (-1.266 - 2.595)	0.500
6	rs2259208	DSP	C	REC	917	-0.702 (-3.151 - 1.747)	0.575
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	890	0.208 (-1.566 - 1.982)	0.818

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, . p.valor < 0.05 en negrita

Como puede observarse, pese a que los 5 polimorfismos asociados en ambas PA son los mismos y con el mismo efecto, los polimorfismos del gen *CCDC146* se asocian con el alelo de riesgo, mientras que los de los genes *PTPRN2* y *ERC1* lo hacen con un efecto protector, los modelos de herencia varían de una a otra.

#### 9.4.5.1 Análisis de asociación de haplotipos

Se realizó el análisis de asociación de haplotipos del gen *CCDC146* debido a la asociación observada con los valores de PA, los resultados no mostraron ninguna asociación haplotípica.

# 10 Comparación de Poblaciones Hipertensas

## 10.1.1 Características de las poblaciones

En vista de los resultados obtenidos, se llevó a cabo una comparación entre la población hipertensa inicial y la subpoblación procedente del Estudio Di@bet.es. En vista de que la nueva población únicamente era un 28% mayor que la inicial, nos decantamos a su vez por sumar ambas poblaciones para obtener una población de mayor tamaño. La comparativa de las características de las poblaciones hipertensas se muestra en la **Tabla 38**. Solamente se aprecian diferencias a nivel de EUA debido a la presencia de macroalbuminúricos en la población inicial.

Tabla 38. Tabla de comparación de características de las poblaciones hipertensas.

Características	Población Hipertensa (n = 873)	Subpoblación Hipertensa Di@bet.es (n = 1209)	Población Hipertensa Total (n = 2082)
Sexo (% H/M)	50.9/47.9	52.8/47.2	52.1/47.3
Edad (años)	53.65 ± 18.22	55.92 ± 15.86	54.74 ± 16.98
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28.02 ± 7.71	29.33 ± 5.09	29.2 ± 5.06
PAS (mmHg)	140.216 ± 29.19	145.69 ± 17.03	145.51 ± 17.34
PAD (mmHg)	84.51 ± 18.67	83.55 ± 12.51	84.84 ± 12.33
Glucosa (mg/dL)	100.83 ± 31.18	103.80 ± 33.95	103.84 ± 30.93
DM2 (%)	10	10.7	10.2
UAE (mg/24h)*¥	47.57 ± 316.21	13.82 ± 28.00	27.14 ± 212.46
mALB (%)*¥	17.2	10.9	14.1

Valores son media (desviación estándar).\*: p-valor menor de 0.05 para la diferencia entre la población hipertensa y la población hipertensa total. ¥: p-valor menor de 0.05 para la diferencia entre subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es y la población hipertensa total IMC: Índice de Masa Corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. EUA: Excreción Urinaria de Albúmina, LogEUA: Logaritmo de la Excreción Urinaria de Albúmina. Diabetes mellitus: Glucemia ≥ 126 mg/dL o estar bajo tratamiento antidiabético.

---

## 10.1.2 Filtrado de datos

334 individuos y 1 polimorfismo fueron eliminados de los análisis debido a que presentaban un porcentaje de genotipado inferior al 90%. Finalmente se analizaron 1.748 individuos en 19 polimorfismos, presentando tanto los individuos como los polimorfismos el 98% de tasa de genotipado de media y cumpliendo también con los parámetros determinados para el MAF (0.05) y el equilibrio de Hardy-Weinberg (0.05).

## 10.1.3 Comparación de Asociaciones

En el apartado 9.4 se evaluó la posible asociación de los polimorfismos seleccionados con la subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es, llegados a este punto se decidió llevar a cabo un análisis comparativo entre ambas poblaciones de estudio y el sumatorio de ambas. En las **Tablas 39 y 40** se muestra la asociación de los polimorfismos con las distintas poblaciones de hipertensos de este estudio con el riesgo de mALB y los valores de EUA respectivamente, dado que eran los resultados q se tenían de la población inicial.

En las **Tablas 41 y 42** se pueden ver los resultados obtenidos en la comparación de las PA, PAS y PAD respectivamente

Tabla 39. Comparación de las asociaciones observadas entre los marcadores genéticos seleccionados y el riesgo de mALB en las distintas poblaciones hipertensas estudiadas: población hipertensa inicial (naranja), subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es (amarillo), población hipertensa total (gris).

CHR	SNP	GENE	Población Hipertensa					Subpoblación Hipertensa Estudio Di@bet.es					Población Hipertensa Total					
			AI	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs3114317	CCDC146	A	ADD	669	2.047 (1.419 - 2.952)	<b>1.26E-04</b>	0.165	REC	811	4.725 (1.518 - 14.700)	<b>7.35E-03</b>	0.140	ADD	1455	1.686 (1.276 - 2.227)	<b>2.36E-04</b>	<b>4.71E-03</b>
9	rs1323467	NR4A3 SEC61B	G	ADD	670	0.416 (0.260 - 0.666)	<b>2.60E-04</b>	0.342	DOM	834	0.916 (0.546 - 1.539)	0.741	1	DOM	1476	0.610 (0.429 - 0.867)	<b>5.86E-03</b>	0.117
10	rs877819	WDFY4	G	REC	670	2.342 (1.482 - 3.703)	<b>2.70E-04</b>	0.355	ADD	766	0.800 (0.554 - 1.155)	0.234	1	REC	1422	1.585 (1.103 - 2.277)	<b>0.013</b>	0.256
7	rs3114316	CCDC146	G	ADD	667	1.897 (1.314 - 2.739)	<b>6.36E-04</b>	0.836	REC	835	3.283 (1.114 - 9.674)	<b>0.031</b>	0.590	ADD	1467	1.488 (1.131 - 1.959)	<b>4.59E-03</b>	0.092
21	rs2252898	KRTAP15-1	A	ADD	668	0.572 (0.414 - 0.790)	<b>6.99E-04</b>	0.919	DOM	820	1.132 (0.694 - 1.845)	0.620	1	ADD	1471	0.691 (0.557 - 0.857)	<b>7.89E-04</b>	<b>0.016</b>
9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	670	0.499 (0.333 - 0.746)	<b>7.26E-04</b>	0.954	ADD	835	0.850 (0.584 - 1.239)	0.398	1	DOM	1477	0.647 (0.479 - 0.873)	<b>4.49E-03</b>	0.090
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	668	1.794 (1.275 - 2.526)	<b>8.07E-04</b>	1	REC	835	2.497 (0.877 - 7.111)	0.087	1	ADD	1474	1.436 (1.101 - 1.872)	<b>7.59E-03</b>	0.152
16	rs8061801	CDH13	A	REC	670	2.722 (1.485 - 4.987)	<b>1.19E-03</b>	1	ADD	783	1.06 (0.7259 - 1.547)	0.764	1	ADD	1439	1.323 (1.048 - 1.671)	0.019	0.373
3	rs9875077	KALRN	G	REC	670	3.367 (1.592 - 7.122)	<b>1.49E-03</b>	1	DOM	832	1.315 (0.825 - 2.096)	0.250	1	ADD	1475	1.452 (1.136 - 1.858)	<b>2.95E-03</b>	0.059
18	rs9950398	APCDD1 VAPA	A	REC	670	5.013 (1.781 - 14.11)	<b>2.26E-03</b>	1	DOM	818	0.539 (0.307 - 0.942)	<b>0.030</b>	0.571	REC	1467	1.28 (0.545 - 3.004)	0.571	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	670	2.736 (1.421 - 5.268)	<b>2.60E-03</b>	1	ADD	833	1.199 (0.829 - 1.735)	0.336	1	REC	1476	2.119 (1.261 - 3.560)	<b>4.59E-03</b>	0.092
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	670	2.137 (1.246 - 3.667)	<b>5.81E-03</b>	1	REC	805	1.826 (0.896 - 3.720)	0.097	1	REC	1459	2.015 (1.314 - 3.092)	<b>1.33E-03</b>	<b>0.027</b>
6	rs2259208	DSP	G	DOM	667	0.580 (0.389 - 0.865)	<b>7.62E-03</b>	1	DOM	790	1.163 (0.716 - 1.887)	0.542	1	DOM	1434	0.778 (0.574 - 1.055)	0.106	1
3	rs10510377	GRM7	G	DOM	668	1.767 (1.156 - 2.700)	<b>8.50E-03</b>	1	REC	823	1.702 (0.194 - 14.930)	0.631	1	DOM	1463	1.608 (1.152 - 2.243)	<b>5.20E-03</b>	0.104
7	rs6972824	PITPN2	A	REC	662	5.529 (1.536 - 19.900)	<b>8.86E-03</b>	1	ADD	833	1.415 (0.902 - 2.220)	0.130	1	REC	1459	2.408 (1.050 - 5.521)	<b>0.038</b>	0.757
7	rs13232567	NPV/STK31	A	REC	668	3.594 (1.369 - 9.436)	<b>9.40E-03</b>	1	REC	757	0.434 (0.098 - 1.933)	0.274	1	REC	1419	1.428 (0.684 - 2.983)	0.343	1
4	rs1993425	SFRP2 DCH52	A	ADD	669	1.429 (1.075 - 1.898)	<b>0.01383</b>	1	REC	818	1.381 (0.812 - 2.347)	0.234	1	REC	1464	1.426 (1.000 - 2.034)	<b>0.050</b>	0.999
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	654	1.560 (1.026 - 2.372)	<b>0.03734</b>	1	REC	779	1.879 (0.387 - 9.128)	0.434	1	ADD	1392	1.265 (0.941 - 1.700)	0.119	1
8	rs374413	ZNF703 KCNJ1	C	DOM	668	1.483 (0.990 - 2.223)	0.05592	1	DOM	819	1.198 (0.733 - 1.956)	0.471	1	DOM	1467	1.428 (1.053 - 1.937)	<b>0.022</b>	0.436

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; AI: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 40. Comparación de las asociaciones observadas entre los marcadores genéticos seleccionados y los valores de log<sub>2</sub>EUA en las distintas poblaciones hipertensas estudiadas: población hipertensa inicial (naranja), subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es (amarillo), población hipertensa total (gris).

CHR	SNP	GENE	Población Hipertensa					Subpoblación Hipertensa Estudio Di@bet.es					Población Hipertensa Total								
			AI	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF			
7	rs114317	CCDC146	A	ADD	667	0.122 (0.027 - 0.217)	<b>0.012</b>	1	0.136 (+0.226 - -0.046)	<b>2.98E-03</b>	1	REC	834	0.121 (-0.205 - 0.447)	0.468	1	DOM	1476	-0.087 (-0.157 - -0.016)	<b>0.016</b>	0.322
9	rs1323467	NR4A3 SEC61B	G	ADD	668	0.136 (+0.226 - -0.046)	<b>2.98E-03</b>	1	REC	834	0.121 (-0.205 - 0.447)	0.468	1	DOM	1476	-0.087 (-0.157 - -0.016)	<b>0.016</b>	0.322			
10	rs877819	WDFY4	G	REC	668	0.182 (0.065 - 0.299)	<b>2.33E-03</b>	1	REC	766	-0.026 (-0.149 - 0.097)	0.677	1	REC	1422	0.075 (-0.010 - 0.160)	0.084	1			
7	rs114316	CCDC146	G	ADD	665	0.082 (-0.010 - 0.176)	0.082	1	REC	835	0.267 (-0.009 - 0.542)	0.058	1	REC	1467	0.160 (-0.062 - 0.383)	0.159	1			
21	rs2252898	KRTAP15-1	A	DOM	666	0.122 (-0.216 - -0.027)	<b>0.012</b>	1	DOM	820	-0.018 (-0.109 - 0.073)	0.699	1	DOM	1471	-0.139 (-0.213 - -0.065)	<b>2.31E-04</b>	<b>4.62E-03</b>			
9	rs2820950	KDM4C	A	ADD	668	0.085 (-0.162 - -0.008)	<b>0.029</b>	1	DOM	835	-0.066 (-0.153 - 0.020)	<b>0.134</b>	1	DOM	1477	-0.052 (-0.117 - 0.012)	0.112	1			
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	666	0.097 (-0.008 - 0.202)	0.072	1	REC	835	0.202 (-0.046 - 0.451)	0.112	1	REC	1474	0.128 (-0.058 - 0.315)	0.179	1			
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	668	0.085 (0.012 - 0.158)	<b>0.021</b>	1	ADD	783	-0.022 (-0.095 - 0.052)	0.562	1	ADD	1439	0.027 (-0.025 - 0.080)	0.305	1			
3	rs9875077	KALRN	G	REC	668	0.225 (0.011 - 0.438)	<b>0.039</b>	1	DOM	832	0.047 (-0.043 - 0.137)	0.305	1	ADD	1475	0.085 (0.029 - 0.142)	<b>2.73E-03</b>	0.055			
18	rs9950398	APCDD1 VAPA	A	REC	668	0.503 (0.200 - 0.806)	<b>1.20E-03</b>	1	DOM	818	-0.056 (-0.148 - 0.037)	0.239	1	DOM	1467	-0.013 (-0.083 - 0.055)	0.701	1			
12	rs12322500	ERC1	A	REC	668	0.325 (0.141 - 0.510)	<b>5.58E-04</b>	0.729	REC	833	0.079 (-0.105 - 0.264)	0.399	1	REC	1476	0.193 (0.058 - 0.329)	<b>5.15E-03</b>	0.103			
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	668	0.201 (0.052 - 0.351)	<b>8.19E-03</b>	1	REC	805	0.113 (-0.039 - 0.266)	0.145	1	REC	1459	0.169 (0.059 - 0.278)	<b>2.50E-03</b>	<b>0.050</b>			
6	rs2259208	DSP	G	DOM	665	0.174 (-0.268 - -0.080)	<b>3.06E-04</b>	0.400	DOM	790	-0.039 (-0.130 - 0.052)	0.402	1	DOM	1434	-0.074 (-0.141 - -0.007)	<b>0.031</b>	0.612			
3	rs10510377	GRM7	G	DOM	667	0.176 (0.072 - 0.281)	<b>9.37E-04</b>	1	DOM	823	-0.091 (-0.199 - 0.016)	0.096	1	ADD	1463	0.113 (0.074 - 0.152)	<b>1.64E-08</b>	<b>3.28E-07</b>			
7	rs6972824	PITPN2	A	REC	660	0.660 (0.297 - 1.024)	<b>3.89E-04</b>	0.508	DOM	833	0.112 (0.009 - 0.215)	<b>0.033</b>	0.627	REC	1459	0.230 (0.007 - 0.454)	<b>0.043</b>	0.868			
7	rs13232567	NPV/STK31	A	REC	666	0.421 (0.142 - 0.699)	<b>3.16E-03</b>	1	REC	757	-0.200 (-0.427 - 0.026)	0.083	1	DOM	1419	-0.041 (-0.112 - 0.028)	0.243	1			
4	rs1993425	SFRP2 DCH52	A	REC	667	0.229 (0.111 - 0.348)	<b>1.49E-04</b>	0.195	REC	818	0.074 (-0.032 - 0.180)	0.173	1	REC	1464	0.115 (0.033 - 0.198)	<b>6.17E-03</b>	0.123			
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	652	0.172 (0.070 - 0.273)	<b>9.23E-04</b>	1	DOM	779	-0.054 (-0.151 - 0.043)	0.276	1	ADD	1392	0.055 (-0.011 - 0.122)	0.104	1			
8	rs374413	ZNF703 KCNJ1	C	ADD	666	0.114 (0.045 - 0.183)	<b>1.28E-03</b>	1	REC	819	-0.138 (-0.436 - 0.160)	0.366	1	ADD	1467	0.119 (0.065 - 0.174)	<b>1.75E-05</b>	<b>3.49E-04</b>			

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; AI: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 41. Comparación de las asociaciones observadas entre los marcadores genéticos seleccionados y los valores de PAS en las distintas poblaciones hipertensas estudiadas: población hipertensa inicial (naranja), subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es (amarillo), población hipertensa total (gris).

CHR	SNP	GENE	Población Hipertensa				Subpoblación Hipertensa Estudio Di@bet.es				Población Hipertensa Total										
			A1	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF			
7	rs3114317	CDC146	A	ADD	620	1.209	(-1.696 - 4.113)	0.415	1	ADD	941	2.496	(0.885 - 4.106)	<b>2.46E-03</b>	0.047	REC	1558	-1.819	(-7.741 - 4.104)	0.547	1
9	rs1322467	NR4A3 SEC61B	G	REC	621	10.000	(0.806 - 19.200)	<b>0.033</b>	1	ADD	969	-0.789	(-2.381 - 0.804)	0.332	1	REC	1581	6.392	(0.654 - 12.130)	<b>0.029</b>	0.583
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	621	2.896	(-4.962 - -0.829)	<b>6.19E-03</b>	1	REC	890	2.282	(0.387 - 4.950)	0.094	1	DOM	1521	-1.174	(-3.010 - 0.662)	0.210	1
7	rs3114316	CDC146	G	ADD	618	0.5389	(-2.297 - 3.375)	0.710	1	ADD	971	2.620	(1.061 - 4.179)	<b>1.03E-03</b>	<b>0.019</b>	DOM	1570	-0.747	(-2.585 - 1.089)	0.425	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	A	DOM	619	1.670	(-1.229 - 4.569)	0.259	1	DOM	953	-0.904	(-2.884 - 1.076)	0.371	1	DOM	1575	2.163	(0.281 - 4.044)	0.024	0.488
9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	621	-1.756	(-4.595 - 1.082)	0.226	1	DOM	971	-1.612	(-3.497 - 0.274)	0.094	1	DOM	1582	-1.642	(-3.280 - 0.004)	0.050	0.991
7	rs3108427	CDC146	A	DOM	619	0.441	(-2.751 - 3.635)	0.786	1	ADD	971	2.234	(0.741 - 3.727)	<b>3.44E-03</b>	0.065	ADD	1579	-0.660	(-2.233 - 0.912)	0.411	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	621	5.625	(0.4809 - 10.77)	<b>0.032</b>	1	ADD	910	-0.678	(-2.017 - 0.662)	0.322	1	REC	1538	0.850	(-2.306 - 4.007)	0.597	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	621	3.375	(-2.920 - 9.670)	0.294	1	DOM	968	1.016	(-0.932 - 2.965)	0.307	1	REC	1580	3.636	(-0.341 - 7.612)	0.073	1
18	rs9950398	APCDD1 VAPA	A	ADD	621	2.095	(-0.615 - 4.806)	0.130	1	ADD	952	0.498	(-0.972 - 1.968)	0.507	1	DOM	1571	0.419	(-1.344 - 2.182)	0.641	1
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	621	0.567	(-1.737 - 2.872)	0.630	1	ADD	969	1.296	(-2.578 - -0.013)	0.048	0.911	DOM	1581	-1.174	(-2.824 - 0.476)	0.164	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	621	4.508	(0.058 - 8.958)	<b>0.048</b>	1	DOM	938	-1.528	(-3.431 - 0.376)	0.116	1	DOM	1562	-0.598	(-2.270 - 1.074)	0.484	1
6	rs2259208	DSP	G	DOM	618	2.779	(-0.105 - 5.663)	0.059	1	REC	917	-2.581	(-5.448 - 0.286)	0.078	1	DOM	1536	0.651	(-1.042 - 2.345)	0.451	1
3	rs10510377	GRM7	G	DOM	619	3.180	(0.016 - 6.344)	<b>0.049</b>	1	ADD	957	0.861	(-0.984 - 2.705)	0.361	1	REC	1568	5.088	(-6.848 - -3.328)	<b>1.74E-08</b>	<b>3.5E-07</b>
7	rs6972824	PTRN2	A	REC	613	3.411	(-7.839 - 14.660)	0.553	1	DOM	968	3.777	(-5.966 - 1.589)	<b>7.46E-04</b>	<b>0.014</b>	DOM	1564	-2.609	(-4.486 - -0.732)	<b>6.51E-03</b>	0.130
7	rs13232567	NPI/STK31	A	ADD	619	2.743	(0.056 - 5.429)	0.046	1	DOM	883	1.605	(-0.452 - 3.662)	0.127	1	ADD	1520	2.085	(0.556 - 3.614)	<b>7.60E-03</b>	0.152
4	rs1993425	SFRP2 DCH52	A	DOM	620	0.817	(-2.204 - 3.839)	0.596	1	ADD	950	0.285	(-0.855 - 1.425)	0.624	1	DOM	1568	1.379	(-0.415 - 3.174)	0.132	1
7	rs10486678	VPS41	A	REC	605	7.880	(-30.46 - -5.298)	<b>5.51E-03</b>	1	ADD	905	0.607	(-1.067 - 2.280)	0.477	1	REC	1489	1.983	(-1.596 - -2.007)	<b>0.012</b>	0.234
8	rs374413	ZNF703 KCNJ1	C	ADD	620	4.623	(2.484 - 6.762)	<b>2.63E-05</b>	<b>0.0345</b>	DOM	951	1.687	(-0.346 - 3.720)	0.104	1	ADD	1570	2.656	(-1.275 - 4.036)	<b>1.69E-04</b>	<b>3.38E-03</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMIS: pacientes sin datos perdidos; P: p. valor sin ajustar, BONF: p. valor ajustado por el test de Bonferroni, p. valor < 0.05 en negrita

Tabla 42. Comparación de las asociaciones observadas entre los marcadores genéticos seleccionados y los valores de PAD en las distintas poblaciones hipertensas estudiadas: población hipertensa inicial (naranja), subpoblación hipertensa del Estudio Di@bet.es (amarillo), población hipertensa total (gris).

CHR	SNP	GENE	Población Hipertensa				Subpoblación Hipertensa Estudio Di@bet.es				Población Hipertensa Total							
			A1	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF	TEST	NMIS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs3114317	CDC146	A	REC	620	2.678 (-4.093 - 9.448)	0.439	1	REC	969	-3.078 (-8.791 - 2.634)	0.291	1	REC	1581	3.231 (-1.092 - 7.553)	0.143	1
9	rs1322467	NR4A3 SEC61B	G	REC	621	6.318 (0.035 - 12.600)	<b>0.049</b>	1	REC	969	-3.078 (-8.791 - 2.634)	0.291	1	REC	1581	3.231 (-1.092 - 7.553)	0.143	1
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	621	2.547 (-3.952 - -1.142)	<b>4.11E-04</b>	0.540	DOM	890	0.208 (-1.566 - 1.982)	0.818	1	ADD	1521	1.025 (-1.954 - -0.096)	<b>0.031</b>	0.6128
7	rs3114316	CDC146	G	DOM	618	1.322 (-0.793 - 3.438)	0.221	1	REC	971	1.1790 (6.870 - 16.710)	<b>3.02E-06</b>	<b>5.74E-05</b>	REC	1570	8.894 (4.598 - 13.190)	<b>5.21E-05</b>	<b>1.04E-03</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	A	DOM	619	0.357 (-1.621 - 2.336)	0.724	1	REC	953	0.875 (-1.439 - 3.188)	0.459	1	REC	1575	-0.597 (-2.005 - 0.810)	0.406	1
9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	621	0.525 (-1.415 - 2.466)	0.596	1	DOM	971	-1.048 (-2.626 - 0.531)	0.194	1	DOM	1582	-0.365 (-1.600 - 0.869)	0.562	1
7	rs3108427	CDC146	A	REC	619	0.591 (-4.916 - 6.098)	0.834	1	REC	971	0.780 (6.339 - 15.210)	<b>2.23E-06</b>	<b>4.24E-05</b>	REC	1579	6.787 (3.195 - 10.380)	<b>2.20E-04</b>	<b>4.40E-03</b>
16	rs8061801	CDH13	A	REC	621	2.699 (0.820 - 6.218)	0.133	1	ADD	910	-0.678 (-2.017 - 0.662)	0.322	1	DOM	1538	-0.967 (-2.226 - 0.291)	0.132	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	621	3.752 (-0.540 - 8.044)	0.087	1	REC	968	1.705 (-2.853 - 6.264)	0.464	1	REC	1580	3.679 (0.687 - 6.672)	<b>0.016</b>	0.3214
18	rs9950398	APCDD1 VAPA	A	DOM	621	0.955 (-1.127 - 3.039)	0.369	1	DOM	952	0.726 (-0.976 - 2.428)	0.404	1	DOM	1571	0.583 (-0.743 - 1.911)	0.389	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	621	1.594 (-2.216 - 5.404)	0.413	1	DOM	969	1.739 (-3.335 - -0.143)	0.033	0.627	DOM	1581	-0.880 (-2.122 - 0.362)	0.165	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	621	2.078 (-0.965 - 5.122)	0.181	1	REC	938	-1.184 (-4.008 - 1.639)	0.411	1	DOM	1562	0.436 (-0.822 - 1.695)	0.497	1
6	rs2259208	DSP	G	DOM	618	1.761 (-0.201 - 3.723)	0.079	1	REC	917	-0.702 (-3.151 - 1.747)	0.575	1	DOM	1536	0.766 (-0.514 - 2.048)	0.241	1
3	rs10510377	GRM7	G	ADD	619	2.400 (0.363 - 4.437)	<b>0.021</b>	1	DOM	957	0.970 (-0.992 - 2.932)	0.333	1	REC	1568	-0.842 (-2.181 - 0.496)	0.218	1
7	rs6972824	PTRN2	A	DOM	613	0.613 (-1.630 - 2.857)	0.592	1	ADD	968	1.992 (-3.611 - -0.373)	0.016	0.306	REC	1564	4.491 (-8.764 - -0.218)	<b>0.040</b>	0.7913
7	rs13232567	NPI/STK31	A	DOM	619	1.855 (-0.211 - 3.921)	0.079	1	REC	883	1.623 (-2.781 - 6.028)	0.470	1	ADD	1520	0.984 (-0.172 - 2.142)	0.096	1
4	rs1993425	SFRP2 DCH52	A	REC	620	0.498 (-2.014 - 3.010)	0.698	1	REC	950	0.664 (-1.266 - 2.595)	0.500	1	REC	1588	0.605 (-0.962 - 2.173)	0.449	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	605	-1.456 (-3.432 - 0.520)	0.149	1	ADD	905	0.607 (-1.067 - 2.280)	0.477	1	REC	1489	-2.896 (-8.224 - 2.432)	0.287	1
8	rs374413	ZNF703 KCNU1	C	ADD	620	3.389 (1.931 - 4.846)	<b>6.24E-06</b>	<b>8.20E-03</b>	DOM	951	0.610 (-1.099 - 2.319)	0.485	1	ADD	1570	2.286 (1.247 - 3.325)	<b>1.71E-05</b>	<b>3.42E-04</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMIS: pacientes sin datos perdidos; P: p. valor sin ajustar, BONF: p. valor ajustado por el test de Bonferroni, p. valor < 0.05 en negrita



# 11 Resumen de Resultados

Resumen de las asociaciones observadas en Población General con la EUA:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
ERC	7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3596	1.834 (1.277 - 2.635)	<b>1.03E-03</b>
ACR	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3503	3.242 (0.626 - 5.858)	<b>0.015</b>
Log_EUA	9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3516	-0.049 (-0.089 - -0.009)	<b>0.016</b>
Log_EUA	7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	3505	0.057 (0.009 - 0.106)	<b>0.021</b>
mALB	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3505	1.231 (1.021 - 1.484)	<b>0.029</b>
ERC	12	rs12322500	ERC1	A	REC	3978	2.136 (1.048 - 4.353)	<b>0.037</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar

Resumen de las asociaciones observadas en Población General con la PA:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
HTA	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4090	1.326 (1.112 - 1.582)	<b>1.71E-03</b>
PAD	7	rs3114317	CCDC146	T	REC	4027	2.895 (0.985 - 4.805)	<b>2.99E-03</b>
PAD	7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4103	2.590 (0.876 - 4.305)	<b>3.08E-03</b>
PAD	7	rs3114316	CCDC146	C	REC	4104	2.730 (0.9133 - 4.547)	<b>3.24E-03</b>
PAS	6	rs2259208	DSP	C	REC	3935	-2.125 (-3.613 - -0.637)	<b>5.16E-03</b>
HTA	8	rs3744413	ZNF703/KCNU1	C	REC	4031	0.583 (0.339 - 1.001)	<b>0.05</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar

Resumen de las asociaciones observadas en la población hipertensa del Estudio Di@bet.es con la EUA:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
mALB	7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	4.725 (1.518 - 14.700)	<b>7.35E-03</b>
ACR	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	833	6.196 (1.258 - 11.130)	<b>0.014</b>
mALB15	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	833	1.537 (1.089 - 2.171)	<b>0.015</b>
logEUA	7	rs3114317	CCDC146	T	REC	811	0.368 (0.062 - 0.674)	<b>0.019</b>
mALB	18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	818	0.539 (0.307 - 0.942)	<b>0.030</b>
mALB	7	rs3114316	CCDC146	C	REC	835	3.283 (1.114 - 9.674)	<b>0.031</b>
logEUA	7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	833	0.112 (0.009 - 0.215)	<b>0.033</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar

Resumen de las asociaciones observadas en la población hipertensa del Estudio Di@bet.es con la PA:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
PAD	7	rs3114317	CCDC146	T	REC	941	13.340 (7.975 - 18.700)	<b>1.29E-06</b>
PAD	7	rs3108427	CCDC146	A	REC	971	10.780 (6.339 - 15.210)	<b>2.23E-06</b>
PAD	7	rs3114316	CCDC146	C	REC	971	11.790 (6.870 - 16.710)	<b>3.02E-06</b>
PAS	7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	968	-3.777 (-5.966 - -1.589)	<b>7.46E-04</b>
PAS	7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	971	2.620 (1.061 - 4.179)	<b>1.03E-03</b>
PAS	7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	941	2.496 (0.885 - 4.106)	<b>2.46E-03</b>
PAS	7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	971	2.234 (0.741 - 3.727)	<b>3.44E-03</b>
PAD	7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	968	-1.992 (-3.611 - -0.373)	<b>0.016</b>
PAD	12	rs12322500	ERC1	A	DOM	969	-1.739 (-3.335 - -0.143)	<b>0.033</b>
PAS	12	rs12322500	ERC1	A	ADD	969	-1.296 (-2.578 - -0.013)	<b>0.048</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar

Resumen de las asociaciones observadas con la PA en Población Hipertensa Total:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
PAS	3	rs10510377	GRM7	C	REC	1568	-5.088 (-6.848 - -3.328)	<b>1.74E-08</b>
PAD	8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	1570	2.286 (1.247 - 3.325)	<b>1.71E-05</b>
PAD	7	rs3114317	CCDC146	A	REC	1558	9.713 (5.281 - 14.14)	<b>1.85E-05</b>
PAD	7	rs3114316	CCDC146	G	REC	1570	8.894 (4.598 - 13.19)	<b>5.21E-05</b>
PAS	8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	1570	2.656 (1.275 - 4.036)	<b>1.69E-04</b>
PAD	7	rs3108427	CCDC146	A	REC	1579	6.787 (3.195 - 10.38)	<b>2.20E-04</b>
PAS	7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	1564	-2.609 (-4.486 - -0.732)	<b>6.51E-03</b>
PAS	7	rs13232567	NPY/STK31	A	ADD	1520	2.085 (0.556 - 3.614)	<b>7.60E-03</b>
PAS	7	rs10486678	VPS41	A	REC	1489	-8.983 (-15.960 - -2.007)	<b>0.012</b>
PAD	3	rs9875077	KALRN	G	REC	1580	3.679 (0.687 - 6.672)	<b>0.016</b>
PAS	21	rs2252898	KRTAP15-1	A	DOM	1575	2.163 (0.281 - 4.044)	<b>0.024</b>
PAS	9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	G	REC	1581	6.392 (0.654 - 12.130)	<b>0.029</b>
PAD	10	rs877819	WDFY4	G	ADD	1521	-1.025 (-1.954 - -0.096)	<b>0.031</b>
PAD	7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	1564	-4.491 (-8.764 - -0.218)	<b>0.040</b>
PAS	9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	1582	-1.642 (-3.28 - -0.004)	<b>0.050</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar

Resumen de las asociaciones observadas con la EUA en Población Hipertensa Total:

VARIABLE	CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA/OR (CI 95%)	P
Log_EUA	3	rs10510377	GRM7	C	ADD	1463	0.113 (0.074 - 0.152)	<b>1.64E-08</b>
Log_EUA	8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	1467	0.119 (0.065 - 0.174)	<b>1.75E-05</b>
Log_EUA	21	rs2252898	KRTAP15-1	A	DOM	1471	-0.139 (-0.213 - -0.065)	<b>2.31E-04</b>
mALB	7	rs3114317	CCDC146	A	ADD	1455	1.686 (1.276 - 2.227)	<b>2.36E-04</b>
mALB	21	rs2252898	KRTAP15-1	A	ADD	1471	0.691 (0.557 - 0.857)	<b>7.89E-04</b>
mALB	4	rs4577579	lincRNA	G	REC	1459	2.015 (1.314 - 3.092)	<b>1.33E-03</b>
Log_EUA	4	rs4577579	lincRNA	G	REC	1459	0.169 (0.059 - 0.278)	<b>2.50E-03</b>
Log_EUA	3	rs9875077	KALRN	G	ADD	1475	0.085 (0.029 - 0.142)	<b>2.73E-03</b>
mALB	3	rs9875077	KALRN	G	ADD	1475	1.452 (1.136 - 1.858)	<b>2.95E-03</b>
mALB	9	rs2820950	KDM4C	A	DOM	1477	0.647 (0.479 - 0.873)	<b>4.49E-03</b>
mALB	7	rs3114316	CCDC146	G	ADD	1467	1.488 (1.131 - 1.959)	<b>4.59E-03</b>
mALB	12	rs12322500	ERC1	A	REC	1476	2.119 (1.261 - 3.560)	<b>4.59E-03</b>
Log_EUA	12	rs12322500	ERC1	A	REC	1476	0.193 (0.058 - 0.329)	<b>5.15E-03</b>
mALB	3	rs10510377	GRM7	G	DOM	1463	1.608 (1.152 - 2.243)	<b>5.20E-03</b>
mALB	9	rs1323467	NR4A3 SEC61B	G	DOM	1476	0.610 (0.429 - 0.867)	<b>5.86E-03</b>
Log_EUA	4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	1464	0.115 (0.033 - 0.198)	<b>6.17E-03</b>
mALB	7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	1474	1.436 (1.101 - 1.872)	<b>7.59E-03</b>
mALB	10	rs877819	WDFY4	G	REC	1422	1.585 (1.103 - 2.277)	<b>0.013</b>
Log_EUA	9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	G	DOM	1476	-0.087 (-0.157 - -0.016)	<b>0.016</b>
mALB	16	rs8061801	CDH13	A	ADD	1439	1.323 (1.048 - 1.671)	<b>0.019</b>
mALB	8	rs374413	ZNF703 KCNU1	C	DOM	1467	1.428 (1.053 - 1.937)	<b>0.022</b>
Log_EUA	7	rs3114317	CCDC146	A	REC	1455	0.261 (0.031 - 0.491)	<b>0.026</b>
Log_EUA	6	rs2259208	DSP	G	DOM	1434	-0.074 (-0.141 - -0.007)	<b>0.031</b>
mALB	7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	1459	2.408 (1.050 - 5.521)	<b>0.038</b>
Log_EUA	7	rs6972824	PTPRN2	A	REC	1459	0.230 (0.007 - 0.454)	<b>0.043</b>
mALB	4	rs1993425	SFRP2 DCHS2	A	REC	1464	1.426 (1.000 - 2.034)	<b>0.050</b>

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar



# Discusión

---

---

## 12 Discusión

### 12.1 Discusión de la Metodología

#### 12.1.1 Diseño del estudio

El presente trabajo ha sido concebido en dos partes, incluyendo ambos estudios de corte transversal.

En la primera fase del trabajo, nuestro objetivo ha sido replicar los resultados obtenidos en un estudio previo de nuestro grupo, así como analizar las asociaciones con los niveles de EUA descritas en otras poblaciones, en una muestra de pacientes hipertensos relativamente amplia. Por lo que seleccionamos pacientes que no estaban bajo tratamiento anti-hipertensivo en el momento de ser estudiados o reclutados (o aquellos de los se disponía de información de PA sin tratamiento). Utilizamos este criterio dado que la PA obtenida sin tratamiento proporciona una mejor medida del impacto de la PA en la aparición de la mALB y no existen interferencias con fármacos anti-hipertensivos, los cuales modulan los niveles de PA y pueden modificar los niveles de EUA. El total de la población hipertensa (Población A) constó de 910 pacientes procedentes de 4 estudios:

- Estudio Hortega, realizado en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario del Río Hortega en Valladolid. Trabajo dirigido por el Dr. JC Marín-Escudero.
- Estudio HTA-SA y Estudio IT, donde la recogida de muestras se realizó de forma conjunta entre el Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario de Valencia y la Unidad de Hipertensión Arterial y Riesgo Cardiovascular del Hospital de Sagunto, Valencia. Trabajo dirigido por el Dr. Redón y el Dr. Pascual.

- 
- Estudio POLPRI, estudio multicéntrico a lo largo de todo el territorio español.

En la segunda fase del trabajo hemos incluido el Estudio Di@bet.es por el hecho de que se trata de una muestra representativa de la población española y está muy bien caracterizada a nivel de daño renal, entre otros muchos parámetros. El estudio en la población Di@bet.es nos ha permitido relacionar las variantes genéticas analizadas con el riesgo de HTAe y los valores de PA en población general y en hipertensos no tratados, así como estudiar sus posibles asociaciones con el riesgo de mALB y valores elevados de EUA.

En esta segunda fase de validación de resultados hemos analizado también la subpoblación hipertensa de la población Di@bet.es (Población B) que no había recibido tratamiento farmacológico. Este análisis, en sí mismo, sería una segunda comprobación de las asociaciones obtenidas en la primera fase; por lo que los resultados, de ser positivos estarían replicados en dos poblaciones independientes de hipertensos.

Las dos poblaciones hipertensas analizadas, Población A y Población B, presentan un rango similar de edades, se han observado ligeras diferencias en los valores de IMC y PAS, siendo más elevados en la Población B, pero sin ser significativas. Una diferencia destacable fue la presencia de pacientes macroalbuminúricos en la Población A, mientras que la Población B no incluía ningún paciente con valores de EUA superiores a 300mg/24h. Junto a las diferencias de niveles de EUA, también se han observado diferencias significativas en la proporción de microalbuminúricos entre ambas poblaciones, siendo ésta mayor en la Población A. (Tabla 38)

Todos los sujetos incluidos en el presente trabajo dieron su consentimiento informado para la cesión de sus muestras para investigación científica. Además, los consentimientos aseguraban la confidencialidad, la protección a los participantes y la garantía de que los resultados de la investigación serían de acceso público. Todos los estudios planteados fueron aprobados por el comité ético correspondiente



## 12.1.2 Discusión de la selección de Variantes

La selección inicial de variantes del presente trabajo se realizó en base a los resultados obtenidos en un estudio GWAS previo de nuestro grupo (133). En él se realizó un GWAS mediante el que se identificaron genes que estaban asociados a los niveles de EUA en la HTAe. El estudio incluyó una muestra de 302 individuos en la que se analizaron 262,314 polimorfismos mediante chips Affymetrix Nsp. A partir de los resultados generados por este estudio seleccionamos 1.467 polimorfismos que presentaron una asociación con el riesgo de microalbuminuria y los valores de EUA con un p.valor inferior a  $10^{-3}$ . Los 69 polimorfismos restantes se seleccionaron en base a asociaciones descritas en la bibliografía en poblaciones diferentes a la española (Anexo 1).

Los resultados obtenidos a partir de la primera fase del presente estudio, nos han permitido seleccionar 20 polimorfismos. Siendo seleccionados los polimorfismos que presentaban una asociación más relevante. Finalmente, estos polimorfismos se han analizado en el Estudio Di@bet.es para comprobar las asociaciones descritas en los dos estudios previos que hemos realizado.

## 12.1.3 Discusión de la metodología empleada

### 12.1.3.1 Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay

La elección de la tecnología Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay de Illumina Inc. estuvo motivada por la posibilidad de analizar un amplio número de polimorfismos seleccionados por nosotros mismos, en una considerable cantidad de pacientes. También, influyo de forma decisiva la disponibilidad del sistema HiScanSQ (Illumina) que permite el escaneado de los microchips utilizados con esta tecnología.

Illumina®GoldenGate® Genotyping Assay es un protocolo flexible y pre-optimizado por Illumina Inc., el cual permite a los investigadores diseñar paneles de

---

marcadores genéticos (normalmente SNPs) de interés, para estudios de genotipado. Además de los marcadores seleccionados, los chips incluyen una serie de controles internos que permiten llevar a cabo el control de calidad del proceso y poder distinguir entre una mala calidad de las muestras empleadas a través de los controles dependientes de muestra o algún fallo durante el procesado de las mismas (control independiente de muestra).

Illumina Inc. asume un rendimiento de entre el 80% y el 95% en el genotipado de los paneles, que como el nuestro, son diseñados por el investigador. Este rendimiento puede verse afectado por la calidad de las muestras y las propias características de los polimorfismos seleccionados.

En nuestro estudio seleccionamos 1.536 polimorfismos para generar el panel y obtener el genotipado de la muestra de pacientes hipertensos (Población A). Obtuvimos una tasa de genotipado del 95.8%; por lo cual, los resultados obtenidos pueden ser considerados de muy buenos y aplicables para los siguientes estudios, ya que se considera una tasa mínima de genotipado aceptable el 90%. (156)

La calidad e integridad de las muestras es un punto clave de para obtener buenos resultados con esta tecnología, ya que la degradación del ADN, a menudo va acompañada de resultados de baja calidad (157). En el caso de nuestras muestras, en las que en muchos casos fue necesario recurrir a la reamplificación, la tasa de pérdida de genotipos es elevada (20.6%).

### **12.1.3.2      Secuenciación NGS**

En la segunda parte de este trabajo, para la validación de los datos obtenidos en la Población A, nos decantamos por un estudio de secuenciación mediante NGS dada la alta flexibilidad y escalabilidad de la técnica y la gran cantidad de información que proporciona.

La metodología de secuenciación ha evolucionado muy rápidamente en los últimos años. Así, lo que hace unos años se hubiese realizado con la metodología clásica Sanger (158), con un elevado coste en tiempo y dinero, ahora es posible a través de las tecnologías NGS de forma mucha más rápida y económica. Esto se debe a la posibilidad de obtener los fragmentos de interés en multiplex y marcar inequívocamente los fragmentos correspondientes a cada muestra. En este sentido, en una reacción de NGS se pueden incluir decenas de fragmentos y miles de muestras (159).

El sistema utilizado para NGS ha sido el MiSeq (Illumina); frente a otros sistemas como Junior 454 (Roche) dado que la fiabilidad de los datos es muy elevada y tiene una capacidad mucho mayor que el sistema Junior. En total se obtuvieron 35 millones de lecturas repartidas entre las 4.785 muestras y los distintos amplicones diseñados, superando el 85% de las secuencias los filtros del análisis primario llevado a cabo por el equipo. Esto supone una elevada calidad en los datos obtenidos dado que el rango normal es del 70-80 %.

Pese al elevado número de muestras, el reducido número de fragmentos a analizar ha hecho que la capacidad de secuenciación del equipo nos proporcione una cobertura apropiada para cada una de las regiones de interés y cada una de las muestras. En el presente estudio el objetivo ha sido el análisis de los marcadores seleccionados por lo que una cobertura de 30X para cada muestra y amplicón es suficiente para realizar el genotipado (160).

### **12.1.3.3 Análisis Bioinformático y Control de Calidad de los datos de NGS**

El análisis de los datos se realizó siguiendo el “*pipeline*” implementada por nuestra unidad, basada en el procedimiento estándar para el análisis de secuencias procedentes de estudios de secuenciación de amplicones mediante NGS (161). Dentro de esta

---

“*pipeline*” se realizan diferentes pasos encaminados a identificar la correspondencia de cada secuencia con la muestra de origen, datos de secuencia de calidad y eliminar de estos datos los cebadores utilizados en la amplificación de los fragmentos

El proceso de secuenciación por síntesis patentado por Illumina Inc., consiste un protocolo de secuenciación largo, pero permite la obtención de una mayor cantidad de información que los microarray. Utilizando la tecnología NGS y el “*pipeline*” de análisis descrito, se observó un rendimiento del 86% con una tasa media de genotipado del 97.4%, el cual presentó una alta fiabilidad. Se procesaron por duplicado el 1% de las muestras y se obtuvo una tasa de concordancia del 100% en la asignación del genotipo para todos aquellos amplicones que superaron los filtros establecidos. Estos datos muestran que la “*pipeline*” implementada permite, mediante los diferentes pasos que incluye, obtener resultados de gran calidad.

La calidad del procesado de la validación se evaluó a través del análisis de la calidad de las secuencias obtenidas. Se estableció como criterio de buena calidad un valor de Phred score superior a 30. Todas aquellas secuencias que no cumplieran este criterio fueron eliminadas y los extremos que presentaban un error superior a 1 cada 20 bases fueron recortados hasta un máximo de 30 bases para aumentar la calidad de la información a analizar. Utilizando el “*pipeline*” de análisis descrito, se comprobó la calidad de las secuencias antes y después del depurado de los extremos. En nuestro caso no se obtuvo una gran diferencia debido a que la calidad de la secuenciación ya había sido muy buena desde el principio.

A continuación, se realizó el llamado de variantes, para el que determinamos que la cobertura mínima requerida para superar los filtros fuera de 10 lecturas con una seguridad de genotipado superior al 90%, finalmente la cobertura media obtenida para cada genotipo asignado fue de 84 lecturas por muestra y polimorfismo con una fiabilidad media de 98.9%, quedando únicamente un 6% de asignaciones con los valores mínimos establecidos. Una vez concluidos tanto los controles de calidad como de genotipado

obtuvimos una población de 4.138 individuos, lo que supuso una pérdida del 13.5% del total.

Tras llevar a cabo todos los controles de calidad establecidos para el genotipado mediante tecnología NGS, se pone de manifiesto la falta de controles más exhaustivos en la calidad de los datos obtenidos mediante microarrays.

## 12.2 Discusión de los Resultados

### 12.2.1 Población Hipertensa

El análisis de la Población Hipertensa, Población A, se inició con la evaluación de las características de la población. Como era de esperar, los individuos con valores de EUA elevados fueron, los que presentan PA mayores, así como un mayor porcentaje de DM2.

Para obtener unos resultados totalmente fiables, evaluamos los controles del procesado para cada una de las muestras incluidas en el estudio. Para ello analizamos de forma individual cada uno de los chips procesados.

En caso de que se hubiese producido un error durante el procesamiento, todas las muestras contenidas en un chip presentarían el control independiente de muestra alterado (control de hibridación secundaria). Ese no fue el caso para ninguno de los chips procesados durante la ejecución del presente trabajo.

Sin embargo, 37 muestras de las 873 procesadas fueron eliminadas por presentar alteraciones en los controles dependientes de muestra y, por tanto, no presentar un genotipado de calidad. Esto fue debido, probablemente, a una mala conservación de la muestra de sangre, lo que origina la degradación del ADN y, por tanto, su fragmentación o problemas durante la extracción del ADN.

---

La evaluación de los controles de calidad se realizó manualmente para cada uno de los chips procesados, eliminando las muestras según los siguientes criterios:

- Control de Extensión Alelo Específica: R menor a 500
- Control de Uniformidad de la PCR: Theta entre 0.4-0.8
- Control de Hibridación Primaria: R menor a 2000
- Control de Extensión: R menor a 1000

Estos criterios utilizados fueron establecidos en las guías de análisis de Illumina (143) y no estaban sujetos a variaciones, por lo que era de esperar que las muestras restantes presentasen una buena calidad de genotipado. Por otro lado, la evaluación de la asignación de genotipos se llevó a cabo de forma visual y, por tanto, existe la posibilidad de que se hayan eliminado genotipos que, de una manera subjetiva, pudieran ser confusos.

Debido a las variaciones en la calidad de las muestras, y pese a que los controles de calidad analizados tras el procesado fueron buenos, muchas de ellas presentaron bajos porcentajes de genotipado y tuvieron que ser eliminadas de los posteriores análisis (21% de la población), dejando un total de 722 individuos.

Varios loci presentaron una asociación estadísticamente significativa ( $p$  valor < 0.05), tanto para los análisis en los que se habían incluido las posibles variables de confusión como en los que no (tablas 11-14 del apartado de resultados). Tras la aplicación de Bonferroni, ninguno de los polimorfismos analizados mantuvo una asociación estadísticamente significativa con las variables relacionadas con la mALB. Algunos de ellos, presentaban una significación indicativa de una posible asociación relevante por lo que fueron seleccionados para su análisis en la segunda fase (154).

Es interesante señalar, que en la selección de polimorfismos para esta primera fase de replicación se incluyeron 69 marcadores que habían mostrado asociación con los niveles de EUA en otras poblaciones. Los resultados obtenidos con estos polimorfismos

muestran que las asociaciones descritas no se producen en nuestra población. Esta falta de replicación puede deberse a varios factores, como que las asociaciones descritas no son lo suficientemente fuertes para identificarlas en una muestra reducida, o que realmente estos polimorfismos no presentan las asociaciones descritas en la población española ya sea por la presencia de un fondo genético y de un ambiente diferentes.

## 12.2.2 Estudio Di@bet.es

A partir de los resultados obtenidos en el estudio previo, se llevó a cabo la validación en una población independiente de aquellos que habían mostrado una mayor asociación con la mALB. Este análisis, al realizarse en población general representativa de la población española, podría mostrar si los marcadores genéticos identificados en la fase 1 se asociaban con los niveles de EUA en población general y si esto podría deberse a asociaciones de los marcadores analizados con los niveles de PA.

Los polimorfismos finalmente seleccionados para la validación fueron: rs3114317, rs2820950, rs3108427, rs4577579, rs3114316, rs9875007, rs527081, rs877819, rs1323467, rs2252898, rs8061801, rs1993425, rs6972824, rs374413, rs13232567, rs10486678, rs9950398, rs12322500, rs10510377 y rs2259208.

Una vez realizado todo el proceso de análisis de calidad de los datos de NGS y obtenidos los genotipos de cada individuo, hemos analizado las variables relacionadas con la mALB. Estos análisis dieron como resultado la asociación del incremento de los valores de EUA, ya fuera con las variables cuantitativas o las cualitativas, con los siguientes polimorfismos:

- rs2820950 (log\_EUA p.valor 0.016), localizado en el gen de la Lisin-metilasa 4C (*KDM4C*) que codifica para una enzima demetilasa de histonas. Este gen participa en la remodelación de la cromatina y, por tanto, está involucrado en la regulación

---

génica (162). No se conoce asociación previa con factores relacionados con mALB o enfermedades cardiovasculares, pero se ha relacionado con la vía de señalización Wnt en cáncer (163), vía que se asocia a su vez con el RAAS y la obesidad (164).

- rs6972824 (ACR p.valor 0.15, log\_EUA p.valor 0.021 y mALB p.valor 0.029), localizado en el gen del receptor tipo N2 de la proteína tirosin-fosfatasa (*PTPRN2*). Su función puede estar relacionada en la regulación de la secreción de insulina a través de la desfosforilación del fosfatidilinositol 3-fosfato y el fosfatidilinositol 4,5-difosfato (165-167). Variaciones este gen se han asociado tanto con DM2 como con HTAe y ERC (168, 169), sin embargo, nosotros no hemos obtenidos resultados para la asociación con la enfermedad renal crónica.

La disponibilidad de datos del Estudio Di@bet.es, nos ha permitido analizar la asociación de los marcadores seleccionados con la enfermedad renal crónica dentro de la evaluación de los niveles de EUA, dado que éstos son un potente marcador del daño orgánico. Los marcadores genéticos asociados a la enfermedad renal crónica fueron:

- rs13232567 (p.valor 1.03e-3), este polimorfismo se localiza en la región intergénica del gen del neuropéptido Y (*NPY*) y el gen de la serin-treonin kinasa 31 (*STK31*). Este polimorfismo se encuentra en desequilibrio de ligamiento con otros marcadores del gen. Este marcador presentó una significación estadística de 1.03e-3 (p.valor ajustado 0.020). Es sabido que este gen juega un importante papel en la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica (ECVA), induciendo la vasoconstricción a través del RAAS (170, 171). La vasoconstricción, inducida por el NPY incrementa la presión arterial en las regiones periféricas (170, 172), lo cual aumentaría la presión en el glomérulo, lo cual incrementa los niveles de albúmina en orina. Existen estudios que relacionan al *NPY* con DM2 y síndrome metabólico (173). Se ha visto, en ratones, que un aumento de los niveles de expresión de este gen en las neuronas noradrenérgicas se relacionan con una mayor obesidad y con variaciones en el metabolismo de la glucosa (174). Así



mismo, otros estudios relacionan el neuropéptido Y con la hipertensión en pacientes con paraganglioma (175).

- rs12322500 (p.valor 0.037), localizado en el gen que codifica para la proteína de la familia *CAST* que interactúa con *RAB6* y *ELKS (ERC1)*. No existen estudios previos que relacionen este gen con la hipertensión o el daño renal, pero dado que participa de la regulación de la transcripción en condiciones de inflamación, podemos suponer que juega algún papel en la regulación génica en la ERC y en el desarrollo de la mALB.

Así mismo, se llevaron a cabo los análisis de asociación de los marcadores seleccionados con las variables relacionadas con la hipertensión. Las asociaciones obtenidas de este análisis para la presencia o ausencia de HTA fueron:

- rs6972824 (p.valor 1.71e-3), localizado en el gen del receptor tipo N2 de la proteína tirosin-fosfatasa (*PTPRN2*), asociado previamente en nuestro análisis con la mALB.
- rs374413 (p.valor 0.05), situado en una región descrita como regulatoria en la zona intergénica de los genes *ZNF703* (proteína con dedos de zinc) y *KCNU1* (subunidad U de los canales de potasio activados por calcio). No existe información de asociación previa con ninguno de los factores de riesgo cardiovascular o renal para estos genes.

Por otro lado, el análisis con los valores de PA dio como resultado la asociación con los siguientes marcadores:

- rs2259208 (PAS p.valor 5.16e-3), localizado en el gen de la desmoplaquina (*DSP*). Este gen se ha visto asociado con niveles ligeramente menores de presión arterial.

---

La desmoplaquina, en su papel de neurotoxina noradrenérgica se ha visto relacionada con la vía de señalización Wnt que ya hemos mencionado previamente (164), estudios han puesto de manifiesto que mutaciones en este gen causan alteraciones en la cinética de conducción-despolarización en pacientes con cardiomiopatía arritmogénica (176).

- los tres polimorfismos analizados para el gen *CCDC146*: rs3114316 (PAD p.valor 3.24e-3), rs3114317 (PAD p.valor 2.99e-3) y rs3108427 (PAD p.valor 3.08e-3), del que no hay información previa que la relacione con la HTAe o sus variables, aunque hay constancia de su expresión génica en el sistema circulatorio según la base de datos de GTEX.

Como era de esperar, el estudio de la población general no nos ha permitido obtener asociaciones llamativas, debido a la baja incidencia de la microalbuminuria en la población general (8%) y porque los polimorfismos han sido seleccionados a partir de una muestra hipertensa con características clínicas muy distintas, donde el 18% del total de la población presentaba microalbuminuria.

Para un estudio más detallado de los factores relacionados con el incremento de la EUA en la hipertensión, seleccionamos únicamente los individuos hipertensos no tratados del Estudio Di@bet.es (Población B) y repetimos los análisis para todas las variables.

En la muestra analizada hemos obtenido las siguientes asociaciones entre las variables relacionadas con los niveles de EUA y los siguientes polimorfismos:

- rs3114316 (mALB p.valor 0.031) y rs3114317 (mALB p.valor 7.35e-3; log\_EUA p.valor 0.19) del gen *CCDC146*, asociados previamente a los niveles de PAD en nuestros análisis en población general.

- rs9950398 (p.valor 0.030), localizado en el gen del regulador 1 de APC (*APCDD1*). Nuestros resultados muestran una asociación de este polimorfismo con un ligero incremento del riesgo de presentar mALB, así mismo, no se identifica la asociación con los niveles normalizados de EUA ni con la medida de ACR. *APCDD1* codifica para una proteína inhibidora de la vía de señalización Wnt que, como ya se ha comentado, está relacionado con el RAAS. Otros autores han descrito que varios polimorfismos del gen *APCDD1* se asocian con los niveles de PA en respuesta a tratamientos con fármacos bloqueadores de los canales de calcio en el Estudio HOME-BP (177).
- rs6972824 (*PTPRN2*), mantuvo la asociación con los niveles de EUA (p.valor 0.033), ACR (p.valor 0.014) y la presencia de mALB en el análisis de pre-microalbuminuria (p.valor 0.015), asociándose también con los niveles de PA, tanto PAS como PAD, p.valor 7.46e-4 y 0.016 respectivamente.

Los marcadores asociados con la ERC fueron:

- rs2252898 (p.valor 0.034), localizado en el gen *KRTAP15-1*, el cual codifica para una proteína asociada a la queratina. No se ha encontrado ningún estudio previo que relacione este gen con la ERC o la HTA
- rs374413 (p.valor 1.97e-3), situado en una región descrita como regulatoria en la zona intergénica de los genes *ZNF703* (proteína con dedos de zinc) y *KCNU1* (subunidad U de los canales de potasio activados por calcio). Este polimorfismo se había asociado previamente a la presencia de HTA en nuestros análisis en la población general.

Finalmente, se analizaron las asociaciones de los marcadores seleccionados con los niveles de PA en la población hipertensa, obteniéndose la asociación con los siguientes loci:

- 
- los tres polimorfismos analizados para el gen *CCDC146* tanto con PAS como con PAD.; rs3114316 (PAS p.valor 1.03e-3 y PAD p.valor 3.02e-6), rs3114317 (PAS p.valor 2.46e-3 y PAD p.valor 1.29e-6) y rs3108427 (PAS p.valor 3.44e-3 y PAD p.valor 2.23e-6).
  - rs12322500 (PAS p.valor 0.048 y PAD p.valor 0.033), localizado en el gen que *ERC1*. En nuestros análisis este locus se ha asociado con la ERC en la población general, pero no hay estudios que describan qué papel puede jugar en el control de la PA.

Debido a la importancia de la obesidad y la DM2 en el riesgo cardiovascular y en el desarrollo de la mALB, también se analizaron las posibles asociaciones de los marcadores seleccionados con las variables IMC, obesidad (IMC>30), glucosa y DM2 (glucosa > 126 mg/dL) sin encontrar ninguna asociación estadísticamente significativa. (datos no mostrados)

Los resultados obtenidos a partir de los análisis de asociación en una población hipertensa independiente (Población B), ponen de manifiesto la importancia de estos loci en el aumento de los niveles de EUA en la HTAe. Prácticamente la totalidad de los loci que han mostrado asociación con las variables relacionadas con la mALB o con la HTA no tienen estudios previos que apoyen esta asociación, sin embargo, algunos de ellos están relacionados con rutas que pueden jugar un papel importante en el incremento de los valores de EUA, como es el caso de los dos loci relacionados con la ruta Wnt. Ésta ruta presenta varias vías de señalización, cuya función afecta a la expresión génica en su ruta canónica, a la adhesión celular y a la polaridad de las células planas.

Por un lado, nuestros loci asociados se localizan en los genes *APCDD1* y *KDM4C*, los cuales codifican para una proteína inhibidora de la ruta canónica y una histona demetilasa respectivamente. La proteína *APCDD1* se encarga de bloquear la unión APC- $\beta$ -catenina, este complejo que se encarga de inhibir la expresión de diversos genes, por lo que variaciones en el gen de la APCDD1 podrían hacer posible la expresión de genes

que, de alguna manera, aumentarían la tasa de filtración a nivel del glomérulo y túbulo proximal. Por su parte, el gen *KDM4C* en su función remodeladora de la cromatina, podría hacer más accesibles los genes a los factores de transcripción(178) (Figura 34).

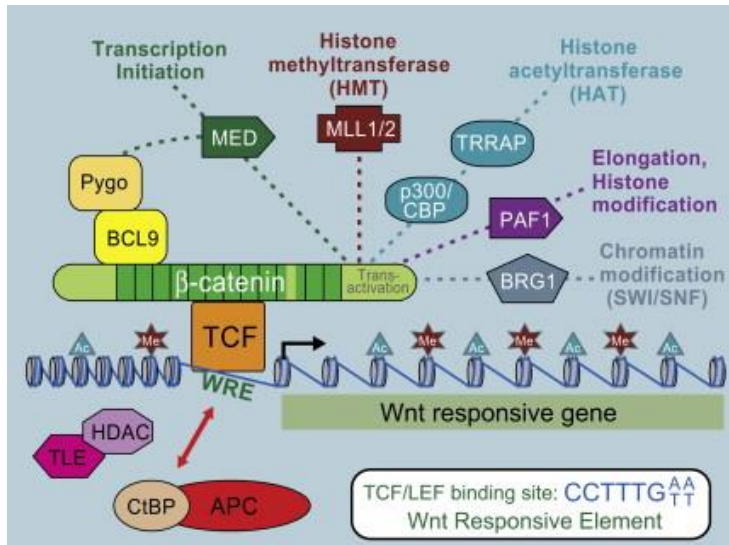


Figura 34. Complejos nucleares coactivadores TCF / β-Catenina. Adaptado de MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. Dev Cell. 2009;17(1):9-26.

Se sabe que algunos genes regulados por la vía Wnt participan de las otras ramificaciones de la vía, aunque se desconoce la totalidad de genes afectados, de modo que es probable que alguno de los genes regulados participe de la ruta de polaridad de las células planas. Esta ruta tiene lugar en los podocitos, los cuales son células completamente diferenciadas que recubren la superficie exterior de los capilares sanguíneos en el glomérulo, estas células presentan una arquitectura compleja con un cuerpo celular y unas extensiones citoplasmáticas llamada pedicelios, los podocitos y junto con las células del endotelio forman la barrera de filtración a nivel del glomérulo (179). Alteraciones en su morfología provocan un aumento de los niveles de EUA, es por esto que tanto la ruta no canónica Wnt/Ca<sup>2+</sup> como la ruta de polaridad de las células planas podrían estar jugando un importante papel en el desarrollo de la mALB (180).

---

A pesar de no haber hayado asociación del locus en el gen *PTPRN2* con la DM2 en nuestra población, se sabe que juega un papel importante en los mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina en la enfermedad renal crónica mediante la desfosforilación del fosfatidilinositol 3-fosfato . El fosfatidilinositol forma parte de la vía de señalización que favorece la adipogénesis, lo cual puede provocar el bloqueo arterial aumentando así la PA que se traduciría en un incremento de la filtración a nivel glomerular lo cual detectaríamos como un aumento de los niveles de albúmina en orina.

### 12.2.3 Comparación Poblaciones Hipertensas

Se llevó a cabo la comparación de las asociaciones obtenidas en las dos muestras de hipertensos incluidas en el presente trabajo, Población Hipertensa inicial (Población A) y selección de individuos hipertensos no tratados del Estudio Di@bet.es (Población B). Además, decidimos unir ambas poblaciones para aumentar el poder estadístico de los resultados obtenidos y verificar que las asociaciones encontradas son similares en ambas poblaciones.

Ambas poblaciones de hipertensos presentaban características similares excepto en los valores de EUA. La diferencia se encontró en la presencia de 20 individuos macroalbuminúricos en la población inicial. A pesar de ello, en varios de los polimorfismos no se ha mantenido la asociación con las variables analizadas en las distintas poblaciones hipertensas analizadas.

Únicamente el polimorfismo rs3114316 del gen *CCDC146* y el rs6972824 del gen *PTPRN2* han mantenido la asociación con la presencia de mALB y los valores de EUA respectivamente. Se observa una discrepancia de modelos de herencia entre las distintas poblaciones estudiadas.

- rs3114316 (*CCDC146*) presenta modelo aditivo en la Población A y modelo recesivo en la Población B.

- rs6972824 (*PTPRN2*) presenta modelo recesivo en la Población A y dominante en la Población B.

En ambos casos, al unir las dos poblaciones se observa que se mantiene la asociación (Tabla 39 y Tabla 40). Los modelos de herencia que se asocian en cada una de las poblaciones viene determinado, sobretodo, por la cómo de próximos estén los heterocigotos a los homocigotos, es por ello que la suma de poblaciones puede ayudarnos a discernir cuál es el modelo que más se adecua a la población. En el caso de las asociaciones observadas en nuestros análisis se ha mantenido el modelo de herencia de la Población A. Podríamos llegar a pensar que la presencia de individuos con valores de EUA superiores a 300 mg/día tendrían algún efecto al unir ambas poblaciones, pero no se ha detectado variación alguna en tal sentido al llevar a cabo los análisis de la población total eliminando a los individuos macroalbuminúricos (datos no mostrados).

---

## 12.3 Limitaciones

La principal limitación de este trabajo, es que está basado en un GWAS previo llevado a cabo en un microarray de baja capacidad, aproximadamente 250.000 loci y un bajo número de individuos debido a limitaciones presupuestarias.

Otro punto a tener en cuenta es que se ha llevado a cabo un proyecto por fases, esto ha generado una pérdida potencial de marcadores de interés, pero podemos estar seguros de las asociaciones obtenidas en la fase final.

A lo largo del trabajo se ha observado la presencia de asociaciones entre los marcadores seleccionados, con variables relacionadas con la HTA. Esta asociación puede haber tenido un efecto indirecto en la asociación de éstos marcadores con los niveles de EUA en la población inicial que desconocemos.

Por otro lado, la secuenciación NGS es una técnica más eficiente y genera una menor incertidumbre en el momento del llamado de genotipos que el genotipado mediante chips, dado que existe un fuerte componente subjetivo en el momento de la generación de clústeres, pudiendo dar lugar a asignaciones de genotipos incorrectos.

Una de las mayores limitaciones que nos hemos encontrado, ha sido la imposibilidad de realizar estudios funcionales que nos permitan corroborar las asociaciones encontradas.



## 12.4 Perspectivas de futuro

Una de las acciones a tomar de cara al futuro de este proyecto, es el análisis de las posibles variaciones adicionales que puedan encontrarse en los amplicones de la validación a partir de los datos ya generados, ya que hasta el momento nos hemos centrado únicamente en los polimorfismos seleccionados de la replicación inicial.

Se ha visto que el gen *PTPRN2*, cuya función como fosfatasa parece estar relacionada con diferentes factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular, presenta asociación tanto con las variables relacionadas con la mALB como con las relacionadas con la HTA. Una vía interesante sería llevar a cabo el estudio del gen completo mediante secuenciación, y en caso de identificar variaciones de efecto funcional desarrollar estudios funcionales.

Del mismo modo, el presente trabajo muestra asociaciones con varios genes involucrados en la vía de señalización Wnt. Lo que nos abre una ventana a la investigación del papel de esta ruta en el desarrollo del daño renal.



## Conclusiones/Conclusions

---

---



- Los individuos con mayores niveles de excreción urinaria de albúmina presentan presiones arteriales elevadas.
- Se ha identificado asociación, tanto población general como hipertensa, entre el riesgo de presentar microalbuminuria con el marcador genético localizado en el gen del receptor tipo N2 de la proteína tirosin-fosfatasa (*PTPRN2*), el cual participa de la desfosforilación proteica.
- En población hipertensa, se han asociado con el riesgo de presentar microalbuminuria los marcadores ubicados en el gen codificante de *coiled-coil domain containing 146 (CCDC146)*, de papel desconocido en el desarrollo de microalbuminuria, y en el gen del regulador 1 de *APC (APCDD1)*, cuya función es la de inhibir la vía de señalización Wnt.
- Se ha identificado asociación, en población general, entre el incremento de los valores de excreción urinaria de albúmina y los marcadores localizados en los genes del receptor tipo N2 de la proteína tirosin-fosfatasa (*PTPRN2*), *ELKS/RAB6-interacting/CAST family member 1 (ERC1)* y neuropéptido Y (*NPY*).
- Se ha identificado asociación entre el incremento de los valores de excreción urinaria de albúmina y los genes *PTPRN2*, *CCDC146* y *APCDD1* en la población hipertensa del Estudio Di@bet.es
- Ninguno de los marcadores genéticos asociados al riesgo de mALB en otras poblaciones han sido replicados en la población española de estudio.
- El rs697284 localizado en el gen *PTPRN2* se ha asociado tanto con los parámetros relacionados con la microalbuminuria como con los niveles de presión arterial en la población general e hipertensa.

- 
- En población hipertensa, el gen *CCDC146*, se encuentra asociado tanto con la presencia de microalbuminuria como con valores elevados de presión arterial.
  - El incremento de los valores de excreción urinaria de albúmina depende de los niveles de presión arterial, de un componente genético complejo, así como de factores no indentificados.

- Patients with higher levels of urinary albumin excretion have elevated blood pressures.
- An association between the risk of presenting microalbuminuria and the genetic marker located in the protein tyrosine phosphatase, receptor type N2 (*PTPRN2*), which is involved in protein dephosphorylation has been identified in general and hypertensive populations.
- In the hypertensive population, the markers located in the coiled-coil domain 146 (*CCDC146*) gene, with unknown role in the development of microalbuminuria, and in the APC down-regulated 1 gene (*APCDD1*), whose function is to inhibit the Wnt signaling pathway, have been associated with the risk of presenting microalbuminuria
- Association between the increase urinary albumin excretion and the markers located in the genes *PTPRN2*, ELKS / RAB6-interacting / CAST family Member 1 (*ERC 1*) and neuropeptide Y (*NPY*).
- Association between the increase of urinary albumin excretion values and the *PTPRN2*, *CCDC146* and *APCDD1* genes in the hypertensive population of the Di@bet.es Study.
- None of the genetic markers associated with risk of mALB in other populations have been replicated in our study in Spanish population.
- The rs697284 located in the *PTPRN2* gene has been associated with both the microalbuminuria-related parameters and the blood pressure levels in the general population and hypertension.

- 
- In the hypertensive population, the *CCDC146* gene is associated with both the presence of microalbuminuria and elevated blood pressure.
  - Increased values of urinary albumin excretion depends on blood pressure levels, complex genetic components, as well as unidentified factors.



# Bibliografía

---

---

1. de la Sierra A, Gorostidi M, Marin R, Redon J, Banegas JR, Armario P, et al. [Evaluation and management of hypertension in Spain. A consensus guide]. *Medicina clinica*. 2008;131(3):104-16.
2. Mancia GF, R; Narkiewicz, K; Redón,J; Zanchetti, A. 2013 ESH/ESC Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *Blood Press*. 2013;22(4):193-278.
3. Gabriel R, Brotons C, Tormo MJ, Segura A, Rigo F, Elosua R, et al. The ERICE-score: the new native cardiovascular score for the low-risk and aged Mediterranean population of Spain. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2015;68(3):205-15.
4. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-53.
5. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *European heart journal*. 2003;24(11):987-1003.
6. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) : the fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *International journal of behavioral medicine*. 2012;19(4):403-88.
7. Danon-Hersch N, Marques-Vidal P, Bovet P, Chiolero A, Paccaud F, Pecoud A, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of high blood pressure in a Swiss city general population: the CoLaus study. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2009;16(1):66-72.
8. Altun B, Arici M, Nergizoglu G, Derici U, Karatan O, Turgan C, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the PatenT study) in 2003. *J Hypertens*. 2005;23(10):1817-23.
9. Efstratopoulos AD, Voyaki SM, Baltas AA, Vratisstas FA, Kirlas DE, Kontoyannis JT, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Hellas, Greece:

---

the Hypertension Study in General Practice in Hellas (HYPERTENSHELL) national study. *American journal of hypertension*. 2006;19(1):53-60.

10. Banegas JR, Graciani A, de la Cruz-Troca JJ, Leon-Munoz LM, Guallar-Castillon P, Coca A, et al. Achievement of cardiometabolic goals in aware hypertensive patients in Spain: a nationwide population-based study. *Hypertension*. 2012;60(4):898-905.

11. Borghi C, Tubach F, De Backer G, Dallongeville J, Guallar E, Medina J, et al. Lack of control of hypertension in primary cardiovascular disease prevention in Europe: Results from the EURIKA study. *International journal of cardiology*. 2016;218:83-8.

12. Agyemang C, Bindraban N, Mairuhu G, Montfrans G, Koopmans R, Stronks K. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension among Black Surinamese, South Asian Surinamese and White Dutch in Amsterdam, The Netherlands: the SUNSET study. *J Hypertens*. 2005;23(11):1971-7.

13. Erem C, Hacıhasanoglu A, Kocak M, Deger O, Topbas M. Prevalence of prehypertension and hypertension and associated risk factors among Turkish adults: Trabzon Hypertension Study. *Journal of public health (Oxford, England)*. 2009;31(1):47-58.

14. Gijon-Conde T, Banegas JR. [Cardiovascular disease in hypertension: gender differences in 100,000 clinical records]. *Revista clinica espanola*. 2012;212(2):55-62.

15. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la Causa de Muerte 2015.

16. Menendez E, Delgado E, Fernandez-Vega F, Prieto MA, Bordiu E, Calle A, et al. Prevalence, Diagnosis, Treatment, and Control of Hypertension in Spain. Results of the Di@bet.es Study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2016;69(6):572-8.

17. Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *The Lancet*. 2007;370(9587):591-603.

18. Viazzi F, Cappadona F, Pontremoli R. Microalbuminuria in primary hypertension: a guide to optimal patient management? *J Nephrol*. 2016;29(6):747-53.

19. Leoncini G, Sacchi G, Viazzi F, Ravera M, Parodi D, Ratto E, et al. Microalbuminuria identifies overall cardiovascular risk in essential hypertension: an artificial neural network-based approach. *J Hypertens*. 2002;20(7):1315-21.

20. Viberti GC, Keen H. Microalbuminuria and diabetes. *Lancet (London, England)*. 1983;1(8320):352.

21. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
22. National Collaborating Centre for Chronic C. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. *Chronic Kidney Disease: National Clinical Guideline for Early Identification and Management in Adults in Primary and Secondary Care*. London: Royal College of Physicians (UK) Royal College of Physicians of London.; 2008.
23. Toto RD. Microalbuminuria: definition, detection, and clinical significance. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)*. 2004;6(11 Suppl 3):2-7.
24. Wachtell K, Olsen MH, Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Nieminen MS, et al. Microalbuminuria in hypertensive patients with electrocardiographic left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *J Hypertens*. 2002;20(3):405-12.
25. Redon J, Williams B. Microalbuminuria in essential hypertension: redefining the threshold. *J Hypertens*. 2002;20(3):353-5.
26. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *The New England journal of medicine*. 1984;311(2):89-93.
27. Network SIG. *Diagnosis and Management of Chronic Kidney Disease: Guideline 103*. 2008.
28. The CARI guidelines. Urine protein as diagnostic test: testing for proteinuria. *Nephrology (Carlton, Vic)*. 2004;9 Suppl 3:S3-7.
29. *Standards of medical care in diabetes-2010*. *Diabetes Care*. 2010.
30. Miller WG, Bruns DE, Hortin GL, Sandberg S, Aakre KM, McQueen MJ, et al. [Current issues in measurement and reporting of urinary albumin excretion]. *Annales de biologie clinique*. 2010;68(1):9-25.
31. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *Jama*. 2001;286(4):421-6.
32. Jager A, Kostense PJ, Ruhe HG, Heine RJ, Nijpels G, Dekker JM, et al. Microalbuminuria and peripheral arterial disease are independent predictors of cardiovascular and all-cause mortality, especially among hypertensive subjects: five-year

---

follow-up of the Hoorn Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1999;19(3):617-24.

33. Viazzi F, Pontremoli R. Albuminuria: the kidney message on cardiovascular health. *J Hypertens*. 2016;34(3):399-401.

34. Pedrinelli R, Dell'Omo G, Di Bello V, Pontremoli R, Mariani M. Microalbuminuria, an integrated marker of cardiovascular risk in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2002;16(2):79-89.

35. Scheven L, Van der Velde M, Lambers Heerspink HJ, De Jong PE, Gansevoort RT. Isolated microalbuminuria indicates a poor medical prognosis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2013;28(7):1794-801.

36. Jones CA, Francis ME, Eberhardt MS, Chavers B, Coresh J, Engelgau M, et al. Microalbuminuria in the US population: third National Health and Nutrition Examination Survey. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2002;39(3):445-59.

37. Fischbacher CM, Bhopal R, Rutter MK, Unwin NC, Marshall SM, White M, et al. Microalbuminuria is more frequent in South Asian than in European origin populations: a comparative study in Newcastle, UK. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2003;20(1):31-6.

38. Zhang J, Chen Y, Xu Y, Li M, Wang T, Xu B, et al. Low-Grade Albuminuria Is Associated with Metabolic Syndrome and Its Components in Middle-Aged and Elderly Chinese Population. *PLoS One*. 2013;8(6):e65597.

39. Robles NR, Felix FJ, Fernandez-Berges D, Perez-Castan J, Zaro MJ, Lozano L, et al. Prevalence of abnormal urinary albumin excretion in elderly people: a Spanish survey. *International urology and nephrology*. 2013;45(2):553-60.

40. Robles NR, Felix FJ, Fernandez-Berges D, Perez-Castan JF, Zaro MJ, Lozano L, et al. Prevalence of abnormal urinary albumin excretion in a population-based study in Spain: results from the HERMEX Study. *European journal of clinical investigation*. 2012;42(12):1272-7.

41. Gutierrez-Repiso C, Rojo-Martinez G, Soriguer F, Garcia-Fuentes E, Vendrell J, Vazquez JA, et al. Factors affecting levels of urinary albumin excretion in the general population of Spain: the Di@bet.es study. *Clin Sci (Lond)*. 2013;124(4):269-77.
42. Ruggenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G. Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *Bmj*. 1998;316(7130):504-9.
43. Calzolaio V. Comparacion de tres metodos para la determinacion de microalbuminuria. *Análisis Clínicos*. 2011.
44. Kumar D, Banerjee D. Methods of albumin estimation in clinical biochemistry: Past, present, and future. *Clin Chim Acta*. 2017;469:150-60.
45. Bakris GL, Williams M, Dworkin L, Elliott WJ, Epstein M, Toto R, et al. Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. National Kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2000;36(3):646-61.
46. Montanes Bermudez R, Gracia Garcia S, Perez Surribas D, Martinez Castelao A, Bover Sanjuan J. Consensus document. Recommendations on assessing proteinuria during the diagnosis and follow-up of chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2011;31(3):331-45.
47. Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D, Campese VM. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 1998;16(9):1325-33.
48. Cerasola G, Cottone S, Mule G, Nardi E, Mangano MT, Andronico G, et al. Microalbuminuria, renal dysfunction and cardiovascular complication in essential hypertension. *J Hypertens*. 1996;14(7):915-20.
49. Mimran A, Ribstein J, DuCailar G, Halimi JM. Albuminuria in normals and essential hypertension. *Journal of diabetes and its complications*. 1994;8(3):150-6.
50. Summerson JH, Bell RA, Konen JC. Racial differences in the prevalence of microalbuminuria in hypertension. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1995;26(4):577-9.

- 
51. Redon J, Liao Y, Lozano JV, Miralles A, Pascual JM, Cooper RS. Ambulatory blood pressure and microalbuminuria in essential hypertension: role of circadian variability. *J Hypertens*. 1994;12(8):947-53.
  52. Pontremoli R, Sofia A, Tirota A, Ravera M, Nicoletta C, Viazzi F, et al. The deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol*. 1996;7(12):2550-8.
  53. Ljungman S. Microalbuminuria in essential hypertension. *American journal of hypertension*. 1990;3(12 Pt 1):956-60.
  54. Mogensen CE. Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1987;31(2):673-89.
  55. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy--an 8-year prospective study. *Kidney Int*. 1992;41(4):822-8.
  56. Bigazzi R, Bianchi S. Microalbuminuria as a marker of cardiovascular and renal disease in essential hypertension. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1995;10 Suppl 6:10-4.
  57. Roberto Bigazzia SB, Duccio Baldaria and Vito M. Campeseb. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 1998;16:1325-33.
  58. Cerasola G, Cottone S, D'Ignoto G, Grasso L, Mangano MT, Carapelle E, et al. Micro-albuminuria as a predictor of cardiovascular damage in essential hypertension. *Journal of hypertension Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*. 1989;7(6):S332-3.
  59. Pedrinelli R, Giampietro O, Carmassi F, Melillo E, Dell'Omo G, Catapano G, et al. Microalbuminuria and endothelial dysfunction in essential hypertension. *Lancet (London, England)*. 1994;344(8914):14-8.
  60. Mimran A RJ, DuCailar G. Is microalbuminuria a marker of early intrarenal vascular damage in essential hypertension? *Hypertension*. 1994;23:878-83.
  61. Mimran A, Ribstein J, DuCailar G, Halimi JM. Hyperfiltration in lean essential hypertension. *Contributions to nephrology*. 1996;119:98-102.



62. Peter Gosling DGB. Urinary albumin excretion and blood pressure in the general population. 21. 1989(39-42).
63. Hoegholm A BL, Kristensen KS, Nielsen JW, Holm J. Microalbuminuria in 411 untreated individuals with established hypertension, white coat hypertension and normotension. *Hypertension*. 1994;24:101-5.
64. Ribstein J, du Cailar G, Mimran A. Combined renal effects of overweight and hypertension. *Hypertension*. 1995;26(4):610-5.
65. de Jong PE, Verhave JC, Pinto-Sietsma SJ, Hillege HL, group Ps. Obesity and target organ damage: the kidney. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26 Suppl 4:S21-4.
66. Bianchi S, Bigazzi R, Quinones Galvan A, Muscelli E, Baldari G, Pecori N, et al. Insulin resistance in microalbuminuric hypertension. Sites and mechanisms. *Hypertension*. 1995;26(5):789-95.
67. Giaconi S, Levanti C, Fommei E, Innocenti F, Seghieri G, Palla L, et al. Microalbuminuria and casual and ambulatory blood pressure monitoring in normotensives and in patients with borderline and mild essential hypertension. *American journal of hypertension*. 1989;2(4):259-61.
68. Redon J, Liao Y, Lozano JV, Miralles A, Baldo E, Cooper RS. Factors related to the presence of microalbuminuria in essential hypertension. *American journal of hypertension*. 1994;7(9 Pt 1):801-7.
69. Orth SR. Smoking--a renal risk factor. *Nephron*. 2000;86(1):12-26.
70. Pinto-Sietsma SJ, Mulder J, Janssen WM, Hillege HL, de Zeeuw D, de Jong PE. Smoking is related to albuminuria and abnormal renal function in nondiabetic persons. *Ann Intern Med*. 2000;133(8):585-91.
71. Ueda S, Elliott HL, Morton JJ, Connell JM. Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*. 1995;25(6):1266-9.
72. Redon J, Chaves FJ, Liao Y, Pascual JM, Rovira E, Armengod ME, Cooper RS. Influence of the I/D Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene on the Outcome of Microalbuminuria in Essential Hypertension. *Hypertension*. 2000;35:490-5.
73. Julve R, Chaves FJ, Rovira E, Pascual JM, Miralles A, Armengod ME, et al. Polymorphism insertion/deletion of the ACE gene and ambulatory blood pressure

---

circadian variability in essential hypertension. *Blood pressure monitoring*. 2001;6(1):27-32.

74. Fernandez-Lama P, Oriola J, Botey A, Coll E, Darnell A, Rivera F, Revert L. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in essential hypertension and nephroangiosclerosis. *Kidney International*. 1998;53:1743-7.

75. Martinez MA, Moreno A, Aguirre de Carcer A, Cabrera R, Rocha R, Torre A, et al. Frequency and determinants of microalbuminuria in mild hypertension: a primary-care-based study. *J Hypertens*. 2001;19(2):319-26.

76. Gerber LM, Shmukler C, Alderman MH. Differences in urinary albumin excretion rate between normotensive and hypertensive, white and nonwhite subjects. *Archives of internal medicine*. 1992;152(2):373-7.

77. Oliverio MI, Kim HS, Ito M, Le T, Audoly L, Best CF, et al. Reduced growth, abnormal kidney structure, and type 2 (AT2) angiotensin receptor-mediated blood pressure regulation in mice lacking both AT1A and AT1B receptors for angiotensin II. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(26):15496-501.

78. Zhao HJ, Wang S, Cheng H, Zhang MZ, Takahashi T, Fogo AB, et al. Endothelial nitric oxide synthase deficiency produces accelerated nephropathy in diabetic mice. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(10):2664-9.

79. Nakagawa T, Sato W, Glushakova O, Heinig M, Clarke T, Campbell-Thompson M, et al. Diabetic endothelial nitric oxide synthase knockout mice develop advanced diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(2):539-50.

80. WTCCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447(7145):661-78.

81. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *The New England journal of medicine*. 2007;357(5):443-53.

82. Imperatore G, Hanson RL, Pettitt DJ, Kobes S, Bennett PH, Knowler WC. Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. Pima Diabetes Genes Group. *Diabetes*. 1998;47(5):821-30.

83. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science (New York, NY)*. 1996;273(5281):1516-7.
84. Munoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, Gonzalez-Gomez LM, Vecchiola A, Fardella CE, et al. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7).
85. Perazella MA, Setaro JF. Renin-angiotensin-aldosterone system: fundamental aspects and clinical implications in renal and cardiovascular disorders. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*. 2003;10(2):184-96.
86. Unger T. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *The American journal of cardiology*. 2002;89(2a):3A-9A; discussion 10A.
87. Dzau VJ. Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis. *Hypertension*. 2001;37(4):1047-52.
88. Karalliedde J, Viberti G. Evidence for renoprotection by blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertension and diabetes. *J Hum Hypertens*. 2006;20(4):239-53.
89. Siragy HM. Evidence for benefits of angiotensin receptor blockade beyond blood pressure control. *Current hypertension reports*. 2008;10(4):261-7.
90. Fernandez-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Coll E, Darnell A, et al. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in essential hypertension and nephroangiosclerosis. *Kidney Int*. 1998;53(6):1743-7.
91. Rahimi Z, Abdi H, Tanhapoor M, Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Nomani H. ACE I/D and MMP-7 A-181G variants and the risk of end stage renal disease. *Molecular biology research communications*. 2017;6(1):41-4.
92. Barrios V, Coca A, Escobar C, Enrique R, Rincon LM. Use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in clinical practice. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2012;10(2):159-66.

- 
93. De Silva L, Weir MR. Renin inhibition and microalbuminuria development: meaningful predictor of kidney disease progression. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(5):437-43.
  94. Yamout H, Lazich I, Bakris GL. Blood pressure, hypertension, RAAS blockade, and drug therapy in diabetic kidney disease. *Advances in chronic kidney disease.* 2014;21(3):281-6.
  95. Mallamaci F, Zuccala A, Zoccali C, Testa A, Gaggi R, Spoto B, et al. The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme is associated with nephroangiosclerosis. *American journal of hypertension.* 2000;13(4 Pt 1):433-7.
  96. Rovira E, Chaves FJ, Julve R, Pascual JM, Miralles A, Armengod ME, et al. [Insertion/deletion polymorphism of the gene encoding for angiotensin-converting enzyme and microalbuminuria in essential arterial hypertension]. *Medicina clinica.* 1999;112(19):726-30.
  97. Chaves FJ, Pascual JM, Rovira E, Armengod ME, Redon J. Angiotensin II AT1 receptor gene polymorphism and microalbuminuria in essential hypertension. *American journal of hypertension.* 2001;14(4 Pt 1):364-70.
  98. Marin P, Julve R, Chaves FJ, Giner V, Pascual JM, Armengod ME, et al. Polymorphisms of the angiotensinogen gene and the outcome of microalbuminuria in essential hypertension: a 3-year follow-up study. *J Hum Hypertens.* 2004;18(1):25-31.
  99. Poch E, de La Sierra A, Gonzalez-Nunez D, Oriola J, Redon J, Chaves FJ, et al. [Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and essential hypertension]. *Medicina clinica.* 2002;118(15):575-9.
  100. Pontremoli Roberto MR, Francesca Viazzi, Clizia Nicoletta, Valeria Berruti, Giovanna Leoncini, Francesca Giacomelli, Gian Paolo Bezante, Giorgio Sacchi, Roberto Ravazzolo, And Giacomo Deferrari. Genetic polymorphism of the renin-angiotensin system and organ damage in essential hypertension. *Kidney International.* 2000;57:561-9.
  101. Wang Z, Martorell BC, Walchli T, Vogel O, Fischer J, Born W, et al. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptors are important to maintain cerebrovascular reactivity in chronic hypertension. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123697.

102. Valenzuela-Sanchez F, Valenzuela-Mendez B, Rodriguez-Gutierrez JF, Estella-García A, Gonzalez-García MA. New role of biomarkers: mid-regional pro-adrenomedullin, the biomarker of organ failure. *Ann Transl Med.* 2016;4(17):329.
103. Sogbe-Díaz ME D-LE. Adrenomedulina en la fisiología y fisiopatología renales. *Invest Clin.* 2016;57(1):66-76.
104. Figueira L, Israel A. Role of cerebellar adrenomedullin in blood pressure regulation. *Neuropeptides.* 2015;54:59-66.
105. Tanaka M, Kitamura K, Ishizaka Y, Ishiyama Y, Kato J, Kangawa K, et al. Plasma adrenomedullin in various diseases and exercise-induced change in adrenomedullin in healthy subjects. *Internal medicine (Tokyo, Japan).* 1995;34(8):728-33.
106. Troughton RW, Lewis LK, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG. Hemodynamic, hormone, and urinary effects of adrenomedullin infusion in essential hypertension. *Hypertension.* 2000;36(4):588-93.
107. Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Beta2- and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation.* 2005;111(25):3429-34.
108. Pereira AC, Floriano MS, Mota GF, Cunha RS, Herkenhoff FL, Mill JG, et al. Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. *Hypertension.* 2003;42(4):685-92.
109. Zhang JJ, Yoshida H, Chao L, Chao J. Human adrenomedullin gene delivery protects against cardiac hypertrophy, fibrosis, and renal damage in hypertensive dahl salt-sensitive rats. *Human gene therapy.* 2000;11(13):1817-27.
110. Caron KM, Smithies O. Extreme hydrops fetalis and cardiovascular abnormalities in mice lacking a functional Adrenomedullin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2001;98(2):615-9.
111. Kobayashi Y, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kokubun S, Soma M. Haplotype-based case-control study revealing an association between the adrenomedullin gene and proteinuria in subjects with essential hypertension. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension.* 2005;28(3):229-36.
112. Masuo K, Katsuya T, Sugimoto K, Kawaguchi H, Rakugi H, Ogihara T, et al. High plasma norepinephrine levels associated with beta2-adrenoceptor polymorphisms

- 
- predict future renal damage in nonobese normotensive individuals. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2007;30(6):503-11.
113. Iaccarino G, Izzo R, Trimarco V, Cipolletta E, Lanni F, Sorriento D, et al. Beta2-adrenergic receptor polymorphisms and treatment-induced regression of left ventricular hypertrophy in hypertension. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;80(6):633-45.
114. Joles JA, Koomans HA. Causes and consequences of increased sympathetic activity in renal disease. *Hypertension*. 2004;43(4):699-706.
115. Nagase S, Suzuki H, Wang Y, Kikuchi S, Hirayama A, Ueda A, et al. Association of eNOS gene polymorphisms with end stage renal diseases. *Molecular and cellular biochemistry*. 2003;244(1-2):113-8.
116. Mostafavi-Pour Z, Ramezani F, Keshavarzi F, Samadi N. The role of quercetin and vitamin C in Nrf2-dependent oxidative stress production in breast cancer cells. *Oncology letters*. 2017;13(3):1965-73.
117. Dell'Omo G, Penno G, Pucci L, Fotino C, Lucchesi D, Del Prato S, et al. Lack of association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms, microalbuminuria and endothelial dysfunction in hypertensive men. *J Hypertens*. 2007;25(7):1389-95.
118. Kodydkova J, Vavrova L, Kocik M, Zak A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia biologica*. 2014;60(4):153-67.
119. Jiang Z, Akey JM, Shi J, Xiong M, Wang Y, Shen Y, et al. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Human genetics*. 2001;109(1):95-8.
120. Watanabe Y, Metoki H, Ohkubo T, Katsuya T, Tabara Y, Kikuya M, et al. Accumulation of common polymorphisms is associated with development of hypertension: a 12-year follow-up from the Ohasama study. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2010;33(2):129-34.
121. Mansego ML, Solar Gde M, Alonso MP, Martinez F, Saez GT, Escudero JC, et al. Polymorphisms of antioxidant enzymes, blood pressure and risk of hypertension. *J Hypertens*. 2011;29(3):492-500.

122. Chaves FJ, Corella D, Blesa S, Mansego ML, Marin P, Portoles O, et al. Xanthine oxidoreductase polymorphisms: influence in blood pressure and oxidative stress levels. *Pharmacogenetics and genomics*. 2007;17(8):589-96.
123. Mohammedi K, Patente TA, Bellili-Munoz N, Driss F, Le Nagard H, Fumeron F, et al. Glutathione peroxidase-1 gene (GPX1) variants, oxidative stress and risk of kidney complications in people with type 1 diabetes. *Metabolism*. 2016;65(2):12-9.
124. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461(7265):747-53.
125. Iyengar SK, Elston RC. The genetic basis of complex traits: rare variants or "common gene, common disease"? *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2007;376:71-84.
126. WTCCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447(7145):661-78.
127. Freedman BI. Susceptibility Genes for Hypertension and Renal Failure. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003;14(90002):192S-4.
128. Fox CS, Yang Q, Cupples LA, Guo CY, Larson MG, Leip EP, et al. Genomewide linkage analysis to serum creatinine, GFR, and creatinine clearance in a community-based population: the Framingham Heart Study. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(9):2457-61.
129. Caroline S. Fox Qy, Chao-Yu Guo, L. Adrienne Cupples, Peter W.F. Wilson, Daniel Levy, And James B. Meigs. Genome-wide linkage analysis to urinary microalbuminuria in a community-based sample: The Framingham Heart Study. *Kidney International*. 2005;67:70-4.
130. Wallace C, Newhouse SJ, Braund P, Zhang F, Tobin M, Falchi M, et al. Genome-wide association study identifies genes for biomarkers of cardiovascular disease: serum urate and dyslipidemia. *Am J Hum Genet*. 2008;82(1):139-49.
131. Hwang SJ, Yang Q, Meigs JB, Pearce EN, Fox CS. A genome-wide association for kidney function and endocrine-related traits in the NHLBI's Framingham Heart Study. *BMC Med Genet*. 2007;8 Suppl 1:S10.
132. Kottgen A, Kao WH, Hwang SJ, Boerwinkle E, Yang Q, Levy D, et al. Genome-wide association study for renal traits in the Framingham Heart and Atherosclerosis Risk in Communities Studies. *BMC Med Genet*. 2008;9:49.

- 
133. Martínez-García F. Elucidating the Genetic Susceptibility of Hypertension Associated Microalbuminuria: Genome Wide Scan. Doctoral thesis. 2009.
134. Andreas R. Tobler SS, Mark R. Andersen, Teodoro M. Paner, Jason C. Briggs, Stephen M. Lambert, Priscilla P. Wu, Yiwen Wang, Alexander Y. Spoonde, Ryan T. Koehler, Nicolas Peyret, Caifu Chen, Adam J. Broomer, Dana A. Ridzon, Hui Zhou, Bradley S. Hoo, Kathleen C. Hayashibara, Lilley N. Leong, Congcong N. Ma, Barnet B. Rosenblum, Joseph P. Day, Janet S. Ziegler, Francisco M. De La Vega, Michael D. Rhodes, Kevin M. Hennessy, and H. Michael Wenz. The SNPlex Genotyping System: A Flexible and Scalable Platform for SNP Genotyping. *Journal of Biomolecular Techniques*. 2005;16(5):398-406.
135. Mottl AK, Vupputuri S, Cole SA, Almasy L, Goring HH, Diego VP, et al. Linkage analysis of glomerular filtration rate in American Indians. *Kidney Int*. 2008;74(9):1185-91.
136. Donald W. Bowden Cjc, Carl D. Langefeld, Mich `Ele M. Sale, Adriennewilliams, Pamela J. Anderson, Stephen S. Rich, And Barry I. Freedman. A genome scan for diabetic nephropathy in African Americans. *Kidney International*. 2004;66:1517-26.
137. Steven C. Hunt Sjh, Hilary Coon, Nicola J. Camp, Richard M. Cawthon, Lily L. Wu, And Paul N. Hopkins. Linkage of creatinine clearance to chromosome 10 in Utah pedigrees replicates a locus for end-stage renal disease in humans and renal failure in the fawn-hooded rat. *Kidney International*. 2002;62:1143-8.
138. Barry I. Freedman Ssr, Hongrun Yu, Bong H. Roh, And Donald W. Bowden. Linkage heterogeneity of end-stage renal disease on human chromosome 10. *Kidney International*. 2002;62:770-4.
139. Yu H, Sale M, Rich SS, Spray BJ, Roh BH, Bowden DW, et al. Evaluation of markers on human chromosome 10, including the homologue of the rodent Rf-1 gene, for linkage to ESRD in black patients. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1999;33(2):294-300.
140. Mena-Martin FJ, Martin-Escudero JC, Simal-Blanco F, Carretero-Ares JL, Arzua-Mouronte D, Herreros-Fernandez V. Health-related quality of life of subjects with known and unknown hypertension: results from the population-based Hortega study. *J Hypertens*. 2003;21(7):1283-9.
141. Redon J, Luque-Otero M, Martell N, Chaves FJ, Investigators P. Renin-angiotensin system gene polymorphisms: relationship with blood pressure and



- microalbuminuria in telmisartan-treated hypertensive patients. *Pharmacogenomics J.* 2005;5(1):14-20.
142. Adeyemo A, Gerry N, Chen G, Herbert A, Doumatey A, Huang H, et al. A genome-wide association study of hypertension and blood pressure in African Americans. *PLoS Genet.* 2009;5(7):e1000564.
143. Illumina Inc. Analyzing GoldenGate® Genotyping Data.
144. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia.* 2012;55(1):88-93.
145. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, et al. Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(15):e115.
146. Koressaar T, Remm M. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics.* 2007;23(10):1289-91.
147. Beckmann-Coulter. Protocolo de purificación AMPure.
148. Promega. Protocolo de cuantificación QuantiFluor.
149. Illumina. Nextera® DNA Library Prep Reference Guide.
150. Tange O. GNU Parallel: The Command-Line Power Tool. *The Usenix Magazine.* 2011;6.
151. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics.* 2009;25(14):1754-60.
152. Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics.* 2011;27(21):2987-93.
153. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007;81(3):559-75.
154. Qu HQ, Tien M, Polychronakos C. Statistical significance in genetic association studies. *Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale.* 2010;33(5):E266-70.
155. Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006;22(15):1928-9.

- 
156. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005;21(2):263-5.
157. Adler AJ, Wiley GB, Gaffney PM. Infinium assay for large-scale SNP genotyping applications. *J Vis Exp*. 2013(81):e50683.
158. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1977;74(12):5463-7.
159. Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE, Kozarewa I, Turner EH, Kumar A, et al. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Meth*. 2010;7(2):111-8.
160. Song K, Li L, Zhang G. Coverage recommendation for genotyping analysis of highly heterologous species using next-generation sequencing technology. *Scientific reports*. 2016;6:35736.
161. Pirooznia M, Kramer M, Parla J, Goes FS, Potash JB, McCombie WR, et al. Validation and assessment of variant calling pipelines for next-generation sequencing. *Human genomics*. 2014;8:14.
162. Gregory BL, Cheung VG. Natural variation in the histone demethylase, KDM4C, influences expression levels of specific genes including those that affect cell growth. *Genome Res*. 2014;24(1):52-63.
163. Yamamoto S, Tateishi K, Kudo Y, Yamamoto K, Isagawa T, Nagae G, et al. Histone demethylase KDM4C regulates sphere formation by mediating the cross talk between Wnt and Notch pathways in colonic cancer cells. *Carcinogenesis*. 2013;34(10):2380-8.
164. Yiew NKH, Chatterjee TK, Tang YL, Pellenberg R, Stansfield BK, Bagi Z, et al. A novel role for the Wnt inhibitor APCDD1 in adipocyte differentiation: Implications for diet-induced obesity. *The Journal of biological chemistry*. 2017;292(15):6312-24.
165. Cui L, Yu WP, DeAizpurua HJ, Schmidli RS, Pallen CJ. Cloning and characterization of islet cell antigen-related protein-tyrosine phosphatase (PTP), a novel receptor-like PTP and autoantigen in insulin-dependent diabetes. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(40):24817-23.
166. Caromile LA, Oganessian A, Coats SA, Seifert RA, Bowen-Pope DF. The neurosecretory vesicle protein phogrin functions as a phosphatidylinositol phosphatase to regulate insulin secretion. *The Journal of biological chemistry*. 2010;285(14):10487-96.

167. Schmidli RS, Colman PG, Cui L, Yu WP, Kewming K, Jankulovski C, et al. Antibodies to the protein tyrosine phosphatases IAR and IA-2 are associated with progression to insulin-dependent diabetes (IDDM) in first-degree relatives at-risk for IDDM. *Autoimmunity*. 1998;28(1):15-23.
168. Yoshida T, Kato K, Yokoi K, Oguri M, Watanabe S, Metoki N, et al. Association of genetic variants with chronic kidney disease in Japanese individuals with or without hypertension or diabetes mellitus. *Exp Ther Med*. 2010;1(1):137-45.
169. Smyth LJ, McKay GJ, Maxwell AP, McKnight AJ. DNA hypermethylation and DNA hypomethylation is present at different loci in chronic kidney disease. *Epigenetics*. 2014;9(3):366-76.
170. Crnkovic S, Egemnazarov B, Jain P, Seay U, Gattinger N, Marsh LM, et al. NPY/Y(1) receptor-mediated vasoconstrictory and proliferative effects in pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol*. 2014;171(16):3895-907.
171. Westfall TC, Macarthur H, Byku M, Yang CL, Murray J. Interactions of neuropeptide y, catecholamines, and angiotensin at the vascular neuroeffector junction. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif)*. 2013;68:115-39.
172. Shanks J, Herring N. Peripheral cardiac sympathetic hyperactivity in cardiovascular disease: role of neuropeptides. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2013;305(12):R1411-20.
173. Ailanen L, Ruuhonen ST, Vahatalo L, Tuomainen K, Eerola K, Salomaki-Myftari H, et al. The metabolic syndrome in mice overexpressing neuropeptide Y in noradrenergic neurons. *The Journal of endocrinology*. 2017.
174. Baltazi M, Katsiki N, Savopoulos C, Iliadis F, Koliakos G, Hatzitolios AI. Plasma neuropeptide Y (NPY) and alpha-melanocyte stimulating hormone (a-MSH) levels in patients with or without hypertension and/or obesity: a pilot study. *American journal of cardiovascular disease*. 2011;1(1):48-59.
175. Lu Y, Li P, Gan W, Zhao X, Shen S, Feng W, et al. Clinical and Pathological Characteristics of Hypertensive and Normotensive Adrenal Pheochromocytomas. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016;124(6):372-9.
176. Gomes J, Finlay M, Ahmed AK, Ciaccio EJ, Asimaki A, Saffitz JE, et al. Electrophysiological abnormalities precede overt structural changes in arrhythmogenic

---

right ventricular cardiomyopathy due to mutations in desmoplakin-A combined murine and human study. *European heart journal*. 2012;33(15):1942-53.

177. Kamide K, Asayama K, Katsuya T, Ohkubo T, Hirose T, Inoue R, et al. Genome-wide response to antihypertensive medication using home blood pressure measurements: a pilot study nested within the HOMED-BP study. *Pharmacogenomics*. 2013;14(14):1709-21.

178. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*. 2009;17(1):9-26.

179. Reiser J, Altintas MM. Podocytes. *F1000Res*. 2016;5.

180. Babayeva S, Rocque B, Aoudjit L, Zilber Y, Li J, Baldwin C, et al. Planar cell polarity pathway regulates nephrin endocytosis in developing podocytes. *The Journal of biological chemistry*. 2013;288(33):24035-48.

**Anexo**





# Anexo 1

Listado de los 1.536 SNPs seleccionados para la réplica utilizando la tecnología Infinium GoldenGate Genotyping Assay.

SNP	Gen	SNP	Gen
rs11734157	LOC100289626/PABPC4L	rs206906	LOC730129/OTOL1
rs9314285	ADAM7	rs11242490	NUDT12/C5orf30
rs7778558	HERPUD2/SEPT7	rs17191965	A2BP1
rs10280461	STARD3NL/LOC100288050	rs10798603	VAMP4
rs10827234	NRP1	rs751853	LOC374491/ATP12A
rs4447914	PABPC4L/LOC100289626	rs3740023	UPF2
rs1721393	LOC100288050/STARD3NL	rs171548	FSTL4
rs614439	MSR1	rs2846658	COLEC12
rs1863052	REEP1	rs8004200	MDGA2
rs3927680	BNC2/CNTLN	rs2461751	ATP5G3/KIAA1715
rs1492712	HNRNPA3P1/LOC100130539	rs10498015	SPAG16
rs1351113	KLRK1	rs6077654	ANKRD5/SNAP25
rs1668349	STARD3NL/LOC100288050	rs1426107	LOC391636/LOC441009
rs996262	LOC399881/LRRC4C	rs10517937	EPHA5
rs985942	PENK/IMPAD1	rs10516657	RASGEF1B/LOC345258
rs12509018	EPHA5	rs479065	LOC345258/RASGEF1B
rs6980941	MSR1/FGF20	rs10515542	KCTD16
rs11860433	CNTNAP4/LOC100289629	rs1986582	NXPH1/PER4
rs6054973	HAO1/BMP2	rs2447540	EXT1
rs4032735	NR4A2/KCNJ3	rs1376486	OR9Q1/OR9Q2
rs17043793	DPP10	rs3846759	HTR1B/IRAK1BP1
rs17030539	PPP3CA/EMCN	rs9305268	APP
rs41440445	SOCS6/CBLN2	rs1783026	APP
rs600662	DCDC5/MPPED2	rs1341794	LRRC7/DEPDC1
rs16976838	SOX9/LOC124685	rs7230782	CDH2/DSC3
rs6901837	OR2J2/OR14J1	rs7895977	LOC642666/NRG3
rs17165554	C7orf62/ZNF804B	rs1299800	OSBP
rs10455175	MAP3K7/EPHA7	rs12274522	TCN1/PLAC1L
rs1243400	GATA3/SFTA1P	rs11209470	DEPDC1/LRRC7
rs2761171	CLYBL	rs10827678	FZD8/ANKRD30A
rs10757276	SMARCA2/FLJ35024	rs1380007	RBM19/TBX5

rs12813018	TRHDE/LOC552889	rs4859184	MCF2L2
rs12185562	OSR1/TTC32	rs12469136	LOC400940/FLJ42418
rs2832908	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs244523	KCTD16
rs3108427	CCDC146	rs6471805	TOX/CA8
rs6452255	LOC100288253/CDH9	rs12200946	MUT/C6orf138
rs1022359	SESTD1/ZNF385B	rs9950398	APCDD1/VAPA
rs1999270	ARHGAP29	rs2422705	TGM3/TGM6
rs7053410	PTCHD1/PRDX4	rs2357508	LRRC6
rs6753743	GLI2/TFCP2L1	rs7005755	LRRC6/TMEM71
rs17022217	CNTN4	rs7718943	SFXN1
rs4932976	LOC100130518	rs567854	RBBP8/CTAGE1
rs13068600	PRKCI/SKIL	rs2414451	NEDD4
rs16974999	PIK3C3/KC6	rs6917550	IRAK1BP1/HTR1B
rs2027663	KRTAP19-5/KRTAP19-4	rs9514265	DAOA/SLC10A2
rs9815299	UBE2E2	rs9414881	CTNNA3/ANXA2P3
rs1502620	LOC339902/C3orf67	rs527081	URB2/LOC100129238
rs4834821	LOC730456/MAD2L1	rs674286	KIAA0774/SLC46A3
rs6535025	LOC100289626/PABPC4L	rs7929217	LRRC4C/LOC399881
rs12201755	KIF13A	rs6707149	LOC728597/SOX11
rs12535329	C7orf60/GPR85	rs6909631	BMP5/COL21A1
rs277203	PUS7L/ADAMTS20	rs17159886	DIP2C/LARP5
rs7161991	TMC3	rs9994615	APBB2
rs1488897	NAALADL2/TBL1XR1	rs11636686	CYP19A1/LOC100288810
rs9942141	PPA2/TET2	rs6138482	VSX1
rs7892835	RPS6KA3	rs4869535	WDR70
rs10510812	C3orf67/LOC339902	rs17367971	TSN/LOC100288443
rs16889857	LOC441009/LOC391636	rs3754798	LOC26010
rs2832878	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs41347044	TBX18/LOC100289423
rs2170553	ELOVL6	rs17076354	LOC375337/ABHD5
rs3922033	SNTG1	rs16830291	POPDC2/COX17
rs16832865	NLGN1	rs10521175	N4BP1/CBLN1
rs9974219	KCNJ6	rs574375	LPHN3/IGFBP7
rs9645351	C1orf88	rs11185172	VAV3
rs12822012	SLC38A1/LOC100288055	rs2195866	SDK1
rs8057882	GOT2/LOC644649	rs7534573	RG55
rs11195324	RBM20	rs1028944	SUPT3H



rs11820583	NELL1	rs351562	MSR1
rs7819002	STMN2/IL7	rs11687841	SLC39A10/LOC645314
rs7798440	SEC61G/EGFR	rs2938610	KIF6/LOC100287824
rs1112565	EGFR/SEC61G	rs7078253	NRG3
rs1368085	TTC21B/GALNT3	rs2875026	GYPB
rs1539784	KRTAP13-4/KRTAP15-1	rs13288681	C9orf150/TYRP1
rs2252898	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs2238301	FANCI
rs10493950	S1PR1/OLFM3	rs6499165	SLC7A6
rs7580962	KIAA1486/IRS1	rs431020	KCNU1/ZNF703
rs9584486	OXGR1/LOC100286928	rs1039609	LOC100132713/GALR1
rs6119407	CHMP4B	rs16870359	KCNIP4
rs4129871	RPS6KA3	rs6817915	KIAA1239/FLJ16686
rs6749132	LOC400940/FLJ42418	rs2007720	ADA
rs454904	ZNF230	rs11193639	SORCS1/LOC100128304
rs2832941	KRTAP19-5/KRTAP19-6	rs10839290	FOLH1/LOC440040
rs10089522	TRPS1/CSMD3	rs13012745	LOC100289658/LOC388965
rs2832907	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs11738850	LOC285692/FAM173B
rs7232860	CDH2/DSC3	rs209491	ELOVL5
rs2832896	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs1555350	CDH4/LOC729296
rs17200617	C16orf82/HS3ST4	rs1746049	HNRNPA3P1/LOC100130539
rs248928	TRIO/DNAH5	rs1875017	ROPN1L
rs4577579	LCORL/SLIT2	rs1544754	EBF1
rs2904040	ARHGAP24/C4orf12	rs1746048	HNRNPA3P1/LOC100130539
rs13329210	NCRNA00052/NTRK3	rs655437	LOC100289003
rs3816489	CCDC104	rs12365930	CASP12/PDGFD
rs6972824	PTPRN2	rs6574605	C14orf145
rs7300383	GSG1/EMP1	rs12526835	LOC100289365/OPRM1
rs11652693	HS3ST3B1/FLJ45831	rs1613454	MTHFS/KIAA1024
rs905647	COLQ	rs4305304	LOC100129278/KLHL29
rs7983750	LOC100286928/OXGR1	rs10844318	DNM1L
rs10495285	LOC100129238/URB2	rs6590039	OR10G7/VWA5A
rs1375823	ZNF385D/UBE2E2	rs17465955	C10orf11
rs12337193	KANK1/LOC645586	rs976072	FANCI/POLG
rs1014233	PIK3R1/CD180	rs10491090	GAS7/LOC100129677
rs6810470	LOC100287564/GUCY1A3	rs10880139	GLT8D3/PDZRN4
rs16905606	KHDRBS3/FLJ45872	rs1374483	LOC729250/PCDH17

rs1178124	HDAC9	rs2344310	C17orf79
rs6746278	SLC19A3/CCL20	rs10789263	DEPDC1
rs1981696	PRKAR2B	rs12379024	TYRP1/C9orf150
rs2490444	LOC100289173/PHACTR1	rs11623142	PAPOLA
rs747030	CACNA2D3/WNT5A	rs7923176	C10orf11
rs2150553	DISC1/SIPA1L2	rs1626912	MSR1/FGF20
rs11074183	UNQ9370/MCTP2	rs17086847	ATXN8OS/LOC100288130
rs2390220	HS2ST1	rs10995312	ADO
rs7281360	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs7600290	PECR
rs1437897	NAP5	rs11636483	FAM169B/IGF1R
rs6725512	C2orf80	rs10999507	ADAMTS14
rs6910441	LOC100287612/MARCKS	rs1972132	KIAA1211
rs9965850	ST8SIA3/WDR7	rs17022594	LOC388965/LOC100289658
rs1878150	LOC552889/TRHDE	rs1514236	KCNJ2/LOC100133226
rs967582	ELAVL4	rs17029407	CMTM7
rs2022248	FLJ45831/HS3ST3B1	rs830234	MAT2B/ODZ2
rs10964178	LOC392288	rs9972775	GOT2/SLC38A7
rs11179545	TRHDE/LOC552889	rs7109264	LOC283155/SC5DL
rs159350	MCTP1	rs4908135	OLFM3/S1PR1
rs8109313	LOC100286904/ZNF222	rs7077159	ANXA2P3/CTNNA3
rs6746842	LOC100288058/INSIG2	rs1030975	NPAS3
rs1905030	LOC100288956/CSMD1	rs3176774	KLRF1/CD69
rs1425870	LOC387820/ETS1	rs6733450	SLC8A1/LOC400950
rs2605327	LOC552889/KCNC2	rs864396	FGD2/PIM1
rs12697946	KIF6	rs1702292	FLJ35409/SNX7
rs11657721	FLJ45831/HS3ST3B1	rs10837782	LOC399881/LRRC4C
rs17009570	C4orf12/ARHGAP24	rs9584390	HS6ST3
rs3108214	ZNF567	rs9886364	TRPS1/CSMD3
rs1060060	NR5A2	rs2605091	LOC728510
rs41480245	ASTN1	rs503602	PGR
rs16850689	ASTN1	rs7014900	CSMD3/TRPS1
rs7070694	ZWINT/IPMK	rs295141	C2orf47/LOC26010
rs1830031	ZNF567	rs16946880	N4BP1/CBLN1
rs894415	RFX7	rs17835197	GARNL4
rs17818796	FAM108A5/MED15	rs10777323	BTG1/DCN
rs12493390	C3orf58/PLOD2	rs9887831	FLJ35409/DPYD

rs1537113	C21orf130/DSCAM	rs1027897	LOC339535/CHRM3
rs11143951	PIP5K1B	rs12944809	RPL38/C17orf54
rs6664067	COL11A1	rs12146668	RAB30
rs9449554	UBE2CBP	rs12910725	WDR72
rs1481423	SEL1L/FLRT2	rs7299358	TBX3/MED13L
rs9653179	LRP1B	rs11016240	DOCK1
rs6068555	TSHZ2	rs11068051	MED13L/LOC100287569
rs3910137	SPTLC3	rs794524	LOC100133050/LOC100289404
rs2884269	C14orf50/PLEKHG3	rs1623851	HNRNPA3P1/LOC100130539
rs4456951	LCORL/SLIT2	rs2938493	AUTS2/STAG3L4
rs6665581	VAMP4/METTL13	rs513391	LOC100130539/HNRNPA3P1
rs1446146	LOC728597/SOX11	rs4253296	KLKB1
rs8061801	CDH13	rs17020662	ZNF827
rs10919814	NR5A2	rs2723334	PITX2/LOC729065
rs720069	TACR1/FAM176A	rs374413	ZNF703/KCNU1
rs9652429	RFX7/NEDD4	rs17572590	NELL2
rs2356472	ASB3/LOC730100	rs17760545	ITPR1
rs6550701	ZNF385D/UBE2E2	rs1360195	SUPT3H
rs2429965	SOX9/LOC124685	rs10849252	KCNAS/NTF3
rs1372454	PVT1/LOC100287906	rs7236071	DKFZP781G0119
rs7611561	FGF12	rs10960693	TYRP1/PTPRD
rs11761619	BBS9	rs1872432	POPDC2
rs10940137	CD180/PIK3R1	rs1876422	LOC100287219
rs17818395	HLF/STXBP4	rs1039611	LOC100132713/GALR1
rs17096696	LOC100288055/SLC38A1	rs4764294	LOC728622/LMO3
rs10806600	LOC100128757/BAI3	rs37032	DIMT1L/KIF2A
rs1584428	RBBP8/CTAGE1	rs2884249	CSMD3/TRPS1
rs17304454	NLGN4X/LOC729162	rs4903948	C14orf145
rs16883896	NUDT3/C6orf1	rs451743	NELL1/ANO5
rs10956754	LOC100129104/ZFAT	rs11233422	RAB30
rs1508668	LOC100128757/BAI3	rs7146456	RAD51L1
rs1452757	TRPS1/CSMD3	rs6557750	ADAM7/NEFM
rs4597146	EMP1	rs6466535	MAGI2
rs11173423	C12orf40/SLC2A13	rs4797589	MPPE1/IMPA2
rs10515469	LOC389328/H2AFY	rs7048117	C9orf150/TYRP1
rs9804876	RASSF8	rs7544694	FAM5C/PLA2G4A

rs12432401	C14orf100	rs17606320	PLA2G4A/FAM5C
rs3095081	C4orf44	rs4315424	LOC100132713/GALR1
rs3785151	SLC6A2	rs1024108	LOC100287946
rs635403	NFIA/C1orf87	rs4962487	C10orf137
rs17038334	FBLN2	rs7334028	SPRY2/SLITRK1
rs2895395	SLC9A10/CD200	rs6946418	NRF1
rs884880	SGMS1	rs7153447	LOC100286940/C14orf34
rs10829585	MKI67/MGMT	rs2047156	UBE2E2/ZNF385D
rs6710217	C2orf80	rs1994559	KIAA0427
rs12471242	PLEKHM3	rs7600871	NAP5
rs282128	GABRR2	rs9958678	VAPA/APCDD1
rs851386	OSR1/NT5C1B	rs2647264	TET2/PPA2
rs7191147	CDH13	rs157914	FLJ43663/KLF14
rs199872	LOC100289469/BCOR	rs17390344	C2orf34
rs11082147	CTAGE1/RBBP8	rs17223593	LOC100289596/ZNF521
rs12251212	RHOBTB1	rs16902025	CTNND2/DNAH5
rs11733830	ARHGAP24/C4orf12	rs17617168	ATPBD4/LOC100288892
rs2900609	C9orf27/DEC1	rs13232567	NPY/STK31
rs11650778	TMEM132E/CCT6B	rs4745815	C10orf11
rs10899973	HNRNPA3P1/LOC100130539	rs7521266	RGS5
rs17700235	PIKFYVE	rs17100087	NRG3
rs836790	ANKRD34B/DHFR	rs7833605	EYA1/MSC
rs518769	FPGT/TNNI3K	rs4531588	TUBA3C/DKFZp686A1627
rs7628755	PDCD6IP/LOC100130503	rs11744970	LOC100127944/DAB2
rs9972374	FAM174B	rs7960411	LOC727847/ALG10B
rs12878945	C14orf145	rs16924671	PTPRD/C9orf123
rs6934474	ATG5/LOC100287330	rs13024335	SPAG16
rs11592650	CACNB2	rs2697150	SLC6A1
rs851393	OSR1/NT5C1B	rs6696527	WDR64
rs1447758	FAM19A1/SUCLG2	rs6593739	PRKAB2
rs13146692	ANK2	rs16939749	NCRNA00052/AGBL1
rs1863642	HPGD	rs7896054	DOCK1
rs3804267	PPAP2A	rs2269668	SCUBE1
rs12326073	KIAA0802	rs1582404	DKFZP781G0119/CYB5A
rs11251795	PITRM1/LOC100287172	rs1335655	KIAA0774
rs6527782	NHS/REPS2	rs12620943	LOC400940/FLJ42418

rs11627646	RAD51L1	rs17022516	LOC388965/LOC100289658
rs6663699	KIAA1026	rs2883434	PRKAB2/PDIA3P
rs790383	MGAT4C/C12orf50	rs10498006	SPAG16
rs17439829	LAMA1	rs6665768	SPEN
rs2981503	SLC12A8	rs1202135	CDH4/LOC729296
rs2035831	NLGN1	rs469382	MX1
rs7210298	YPEL2/DHX40	rs2133450	GRM7
rs6533492	ELOVL6	rs41412146	GRM7
rs2350557	LOC144776/LOC100287432	rs1028317	ASTN1
rs2609266	FAM13A	rs2028245	UNKNOWN/ZBTB20
rs4422454	C4orf41	rs4894640	NLGN1
rs12471428	TTN/CCDC141	rs4106119	KCNIP4
rs4328647	SOX11/LOC728597	rs10494600	PLA2G4A/FAM5C
rs511325	LPHN3/IGFBP7	rs1431347	LOC646484/CLGN
rs4948776	LOC100130539/HNRNPA3P1	rs2036610	LOC100127944/DAB2
rs3813179	IL1RAPL1	rs9291762	IPO11
rs4355254	CD200/SLC9A10	rs1499762	TRPC7/SPOCK1
rs13062142	TM4SF4	rs248626	PCDH1/ARAP3
rs16923328	UBXN2B/FAM110B	rs3923169	MAT2B/ODZ2
rs11975562	DPP6	rs4867806	CPLX2
rs86	NPVF/NFE2L3	rs10498807	COL21A1/BMP5
rs11777472	FLJ43860/NCRNA00051	rs9321194	C6orf191
rs996221	LYPLAL1/TGFB2	rs10499402	THSD7A
rs4689411	PPP2R2C	rs1013986	DGKB
rs16856502	DISC1/SIPA1L2	rs719967	CCDC129
rs7513563	KLF17	rs1011630	AUTS2/STAG3L4
rs6452423	SSBP2/ATG10	rs10257572	TPK1
rs11669315	OR10H2	rs7780487	DPP6
rs955607	SYNPO2	rs1389377	MSR1/FGF20
rs10850237	RBM19	rs2119530	SULF1
rs7719428	LOC100287281/GDF9	rs17440838	IL7/STMN2
rs10913578	VAMP4/METTL13	rs7822384	COL14A1/DEPDC6
rs17101956	C14orf50/PLEKHG3	rs2762462	TYRP1
rs356861	DSC3/CDH2	rs10512037	RORB
rs12899011	SLCO3A1	rs1417603	KLF4/RAD23B
rs17425459	APBB2	rs956086	GPR158

rs1483873	ASB3/LOC730100	rs6593745	FMO5
rs587116	DDI1/PDGFD	rs7893164	CTNNA3
rs9662589	SIPA1L2/DISC1	rs4769689	KIAA0774
rs9303196	WSCD1/NLRP1	rs4530133	IRX3/FTO
rs7653101	ZNF385D/UBE2E2	rs329024	PPP4R1
rs2210111	CDH4	rs6566620	CBLN2/SOCS6
rs2841346	CHRM3/LOC339535	rs6542248	ACOXL
rs7718774	DAB2/LOC100127944	rs295149	LOC26010
rs8046065	CREBBP	rs1872898	ANO5/NELL1
rs10176714	LOC647012/LRP1B	rs1875018	ROPN1L
rs5927725	DMD	rs246642	ARHGAP26
rs4741484	TTC39B	rs2259208	DSP
rs847442	LOC100131512/AGR3	rs2824140	C21orf34/CXADR
rs847441	LOC100131512/AGR3	rs2039246	CXADR/C21orf34
rs17154077	COG5/GPR22	rs2830727	ADAMTSS/LOC100288252
rs10070717	FAM173B/LOC285692	rs2836285	KCNJ15
rs1882094	NRF1	rs7237249	DKFZP781G0119
rs2520242	GPR22/COG5	rs10847634	TMEM132C
rs10838521	SLC35C1/LOC100289343	rs7046679	TTL11
rs2380750	LRP1B/LOC647012	rs2982507	LOC100286988
rs9304978	ZNF85/ZNF430	rs10491954	ERC1
rs448936	ISCA1L/HTR1A	rs500647	PTGER3
rs7193788	MPHOSPH6/CDH13	rs7555335	ASTN1
rs1604335	THSD4	rs2659990	CTNNA3
rs10486678	VPS41	rs2065842	PCDH15
rs12657697	SLCO4C1/ST8SIA4	rs7504597	LOC100132713/GALR1
rs703327	NT5C1B/OSR1	rs163017	PDE8B
rs10849573	WNK1	rs10117505	BARX1/PHF2
rs11207808	NFIA/TM2D1	rs10770197	LOC390298/LOC728622
rs4891959	CBLN2/SOCS6	rs1374016	CAPSL/UGT3A1
rs1812175	HHIP	rs7900231	GPR158
rs2269656	TNN	rs7690708	KIAA1239/FLJ16686
rs4818756	C21orf122/NCRNA00162	rs7993042	LOC100288208/KLF12
rs9553571	DKFZp686A1627/TUBA3C	rs1189796	LOC440180/OTX2
rs7350109	CA8/TOX	rs9435441	PRMT6/NTNG1
rs10899277	GUCY2E/TSKU	rs266370	SMAD6/SMAD3

rs12622858	NRXN1	rs10108802	UNC5D/DUSP26
rs10825905	ZWINT/IPMK	rs368879	LOC144776/LOC100287432
rs16973538	RBBP8/CTAGE1	rs13431126	SPHKAP
rs9423896	ASB13/LOC100288895	rs10174633	TNS1
rs2803353	SNX9	rs7019981	TYRP1/C9orf150
rs10198898	LOC100288057/NMS	rs557208	URB2/LOC100129238
rs9824123	CNTN6/LOC100288445	rs7649094	FAM19A4/C3orf64
rs854537	PPP1R9A	rs7566873	LOC100289658/LOC388965
rs150522	CCL1/C17orf102	rs9550455	KIAA0774
rs10126713	PCDH19/LOC442459	rs2119245	TSHZ1
rs7632573	GBE1/LOC100289598	rs720066	RND3/RBM43
rs8038492	NCRNA00052/NTRK3	rs11108317	CCDC38
rs2770725	KDM4C/C9orf123	rs17650849	NELL2
rs651372	LOC339535/CHRM3	rs11182568	NELL2
rs7708515	SDHA	rs479531	LOC100129238/URB2
rs11826363	PDE3B	rs11684954	ACVR2A/PABPCP2
rs10510529	ZNF385D/UBE2E2	rs10822490	ANXA2P3/CTNNA3
rs2298516	NCAM2/NCRNA00158	rs11714381	ECT2
rs6797689	GSK3B/LOC100129707	rs11668391	VSTM2B/POP4
rs12415708	C10orf11	rs6866903	IRX1/LOC340094
rs12322500	ERC1	rs12250893	DOCK1
rs7374776	WDR53	rs7729719	KIF2A
rs12535006	MDFIC/TFEC	rs1323467	NR4A3/SEC61B
rs339114	OTOL1/C3orf57	rs12645423	SFRP2/DCHS2
rs2359866	TTLL5	rs747782	LOC100287189/PTPRJ
rs17070282	RBM26/RNF219	rs9932411	FTO
rs6832395	LOC100288304/LOC100288373	rs1923958	KIF16B/MACROD2
rs2918417	NR3C1	rs6924755	OSTCL
rs2060247	ATCAY	rs16931965	HSN2/WNK1
rs7374732	ZNF385D/UBE2E2	rs1971911	DNM1L
rs564148	CSMD2	rs6884018	LOC100289003
rs986994	COG5/GPR22	rs300197	CCNG1/GABRG2
rs17758959	LOC100286951/CSMD1	rs11101530	WDFY4
rs2689127	LOC339535/CHRM3	rs1387763	DCN/BTG1
rs34991329	ODZ4/LOC100288816	rs2375953	FLJ16686/KIAA1239
rs4376195	LOC100289626/PABPC4L	rs7513108	RG55

rs10146795	KIAA1409	rs6602745	PRKCQ
rs3803269	UBL3/KATNAL1	rs12892825	TSHR/C14orf145
rs11021214	FAM76B/LOC100129203	rs7983586	KIAA0774
rs4722273	STK31	rs1498372	ST6GALNAC3
rs2240774	JMJD6	rs17084316	MCTP1
rs3095425	FAM5C/PLA2G4A	rs2117914	CCDC38
rs9556671	OXGR1/LOC100286928	rs2984915	LOC100131060
rs3127511	PLA2G4A/FAM5C	rs7982077	KIAA0774
rs7248867	OR10H3/LOC388514	rs7695878	KCNIP4
rs9918053	TRAM1L1/NDST4	rs1328895	ACO1/LOC100288436
rs11123859	TBC1D8	rs10199734	NBAS
rs17669415	DCC	rs1915585	LOC285194/IGSF11
rs4786215	A2BP1/TMEM114	rs10195267	LOC100129278/KLHL29
rs2047116	ASB3/LOC730100	rs1330915	FGF9/LOC646201
rs16872301	CNBD1/WDR21C	rs7563283	LOC100129278/KLHL29
rs2424384	NKX2-2/PAX1	rs10165804	SPAG16
rs9854749	PDCD6IP/LOC100130503	rs10828800	GPR158
rs2249140	GRIK1	rs10183009	BARD1
rs7337141	DKFzP686A1627/TUBA3C	rs1317472	DPYS
rs9914560	NTN1	rs881670	ZC3HAV1
rs17619135	MC2R/LOC100289436	rs13188069	SERINC5
rs1554930	LOC100289305/PSMG1	rs17478205	DISP1
rs158630	LOC100288976/DCDC5	rs13159699	ZNF608/GRAMD3
rs17074674	NKTR	rs6558435	LOC401442/DLGAP2
rs11179277	CNTN1	rs2342716	IGFBP7/LPHN3
rs6483541	MRGPRX1/PTPN5	rs11712736	GRIP2/C3orf19
rs10461205	SPRY1/LOC285419	rs7560229	SPAG16
rs1060586	RBM18	rs881669	ZC3HAV1
rs6605524	THBS2/LOC100289536	rs17613911	C14orf145
rs585622	CHRM3/LOC339535	rs16850561	ASTN1
rs500717	UBL3/KATNAL1	rs17667213	RBMS3
rs2089400	PCDH15	rs1046528	TCF7L2/HABP2
rs1940750	LOC387820/ETS1	rs527984	RNF144B
rs17115821	TMPRSS5	rs6747251	ATP5G3/KIAA1715
rs487330	SORL1/LOC399959	rs10849250	KCNA5/NTF3
rs6981252	LOC100128993/PSD3	rs4774825	PRTG/NEDD4



rs10521291	FLJ45831/PMP22	rs2329247	SLITRK1/SPRY2
rs2870942	CAND1/GRIP1	rs11001786	C10orf11
rs2832892	KRTAP15-1/KRTAP19-1	rs950540	RLBP1
rs9812892	SUCLG2/FAM19A1	rs7959164	PPFIBP1
rs10510377	GRM7/LOC100288428	rs7069698	LOC642666/NRG3
rs17000204	NCRNA00158/NCAM2	rs11582214	LOC729977/LOC100286918
rs33992134	C20orf20/NTSR1	rs1928224	ACO1/LOC100288436
rs17711186	WVOX	rs4887003	TBC1D2B/SH2D7
rs12125940	ST6GALNAC3/ASB17	rs7534557	BAT2D1
rs6467970	SEMA3E/SEMA3A	rs2971157	SOX5
rs10876876	KIF21A	rs7980358	ALG10B/LOC727847
rs4317599	CSMD1	rs16938588	LOC100130301/C8orf84
rs13046078	GABPA	rs4766365	KCNA5/NTF3
rs2119783	LOC286177/IMPAD1	rs7141434	C14orf145
rs7695327	FAT4/LOC729424	rs257474	TGFB1/LECT2
rs10810668	BNC2/CNTLN	rs17170241	TPK1
rs737857	SEPT5/LOC150185	rs12151707	GPR155
rs10483741	PRKCH	rs16873366	RUNX2/SUPT3H
rs4404084	A2BP1	rs13391145	LOC645314/SLC39A10
rs10492025	RPH3A	rs1843910	LOC727847/ALG10B
rs1911979	MCF2L2/KLHL6	rs4842376	LIN7A/ACSS3
rs324175	ANO5/NELL1	rs7523871	LYPLAL1/LOC728510
rs3739216	ADRA1A	rs6859024	NR3C1/HMHB1
rs6488270	C12orf59/GABARAPL1	rs7637860	DIRC2
rs6434804	DNAH7	rs12582311	AVIL
rs1042713	ADR82	rs159321	LOC26010
rs6808204	MCF2L2/KLHL6	rs6904215	PECI/KU-MEL-3
rs13435210	PABPC4L/LOC100289626	rs11059756	TMEM132C
rs12541522	ADAM7	rs606861	FBXL3
rs10501264	LOC399881/LRRC4C	rs4652206	ASTN1
rs12714182	KDM3A/REEP1	rs7304552	DCN/BTG1
rs7840827	AP3M2/MYST3	rs1156312	SPRY2/SLITRK1
rs17006217	KCNH8/EFHB	rs17403773	KIAA0562
rs10994491	CDC2/ANK3	rs9633761	PTER/C10orf97
rs6463000	C7orf10/INHBA	rs12465209	ACVR2A/PABPCP2
rs17114837	C14orf23/PRKD1	rs2744854	PTCHD2/UBIAD1

rs9305354	NCRNA00161/C21orf94	rs1339550	BNC2
rs7944706	AMPD3/ADM	rs1060561	DOCK1
rs7559027	SNAR-H/LRRTM4	rs4870006	AKAP12
rs706430	DAB1/OMA1	rs4714881	CLIC5/RUNX2
rs10233082	EEPD1/SEPT7	rs6565143	CDH13
rs4723436	HERPUD2/TBX20	rs1530339	ZNF509
rs10850931	KSR2	rs4686849	ST6GAL1/RPL39L
rs11068715	KSR2	rs10832184	SPON1
rs2113379	ADAM23	rs11950295	WDR70
rs10489639	CD48	rs8182116	PLCG2
rs2885618	LOC100131669/SLC14A2	rs1945625	INSC
rs4399321	ADM/SBF2	rs235147	ATXN1
rs10934479	LOC255025/LOC644063	rs1947241	ZNF385D/UBE2E2
rs484933	LOC399959/LOC100288752	rs6718816	ARHGEF4
rs3802241	ADRA1A	rs10404509	CEACAM8/PSG3
rs599839	CELSR2/PSRC1	rs2937148	XYLT1/LOC100288408
rs10489588	ACTRT2/FLJ42875	rs7949517	LUZP2/ANO3
rs10485409	MAP3K7/EPHA7	rs1453630	VWA5A/OR10G7
rs9415047	CDH23	rs6451331	WDR70
rs16868880	LCORL/SLIT2	rs17796501	ACVR2A/PABPCP2
rs1421980	ODZ2	rs10755848	LOC100129603
rs11674376	ZNF385B	rs324258	NELL1/ANO5
rs12940578	MYOCD/MAP2K4	rs9875077	KALRN
rs17699561	NLRP7	rs17011480	ZNF385D/UBE2E2
rs4855407	MITF/FRMD4B	rs2251928	DOCK1/C10orf141
rs10847957	TMEM132D	rs3790759	CAPZB/C1orf151
rs3773569	CACNA2D3	rs12604920	APCDD1/VAPA
rs2167919	LOC100288243/LOC729992	rs4577892	FLJ42280/SHFM1
rs13000241	MTX2/LOC375295	rs11171321	CPNE8/KIF21A
rs327118	KIAA0774/SLC46A3	rs622721	PTGER3
rs1359182	DNAJC15	rs17024787	SNRPF
rs717054	SYT4/SETBP1	rs2147441	C10orf47
rs10842654	RASSF8	rs395076	ZNF703/KCNU1
rs17676297	LOC285194/IGSF11	rs4770311	FGF9/LOC646201
rs2868919	CDS1	rs946708	LOC100128657/ACTL7B
rs439222	ZNF608/GRAMD3	rs17184921	POP1

rs327866	GRAMD3/ZNF608	rs1754281	GPR158
rs2594259	FHIT	rs2176118	TRPS1/CSMD3
rs355231	LOC399881/LRRC4C	rs11675985	REEP1
rs1178142	HDAC9	rs16844054	DNAH14
rs1029224	C21orf41/GRIK1	rs17804798	TAF2/ENPP2
rs13128132	LOC441052/AADAT	rs9378854	PECI/KU-MEL-3
rs1457515	FLJ42418/LOC400940	rs16883314	DUSP26/UNC5D
rs11835311	ANO2/NTF3	rs12264769	DOCK1
rs731017	FAM46C/LOC100131261	rs1450208	FIBIN/SLC5A12
rs11928696	LOC100289491/TM4SF4	rs1861431	BCL11A/LOC730134
rs10756006	DMRT3/DMRT2	rs178497	C14orf37
rs7093062	HNRNPA3P1/LOC100130539	rs4768411	LOC100288182/PRICKLE1
rs9415998	CDH23	rs7147624	LOC645431/MAX
rs3108609	ZNF461	rs10844324	DNM1L
rs3786228	CTDP1	rs4146405	KIAA0774
rs10492330	RBM19/TBX5	rs209505	ELOVL5
rs12137158	GREM2	rs12582750	CCDC38
rs11152990	LOC100287330/ATG5	rs41422052	NRXN1
rs13100201	CNTN4	rs282958	NUDT7/ADAMTS18
rs2553637	LOC400794	rs1990410	LOC649489/LOC729121
rs4696737	ABLIM2	rs16890857	IPO11
rs11787055	AGPAT6/GINS4	rs10891872	LOC100287201/CADM1
rs4623425	SGCZ	rs10847919	TMEM132D
rs963264	FAM46C/LOC100131261	rs7972145	ASCL1/C12orf42
rs4596632	EFR3A/ADCY8	rs17628895	AADAT/LOC441052
rs1709302	KLHL29	rs2426330	ATP9A
rs748012	TMCC2	rs756750	CCDC60/LOC387890
rs10896152	OR5T3/OR5T1	rs7800747	TBX20/HERPUD2
rs41442244	OR7D2/OR7D4	rs10960779	C9orf150/TYRP1
rs2568396	GRAMD3/ZNF608	rs6890660	CAPSL
rs1196396	LOC100128372/GMDS	rs1054897	KIF2A/DIMT1L
rs6110305	FLRT3/MACROD2	rs9452134	EPHA7/MAP3K7
rs8050316	CDH13	rs965950	VRK1/PAPOLA
rs1730226	RARB	rs11218016	GRIK4
rs193021	NR4A3/SEC61B	rs10772590	GPR19
rs11206497	DHCR24/TMEM61	rs414018	KCNU1/ZNF703

rs965574	LOC100131261/FAM46C	rs12250948	TCF7L2/HABP2
rs1777258	KCNH1	rs731975	CHD5
rs8055256	CDH13	rs319464	FAM46C/LOC100131261
rs2154401	LOC100130539/HNRNPA3P1	rs4908752	KCNAB2
rs10512009	TRPM3/TMEM2	rs778417	USP24/LOC100288320
rs1443568	DCC	rs7751473	SNRNP48/BMP6
rs11250919	LOC100129465/LOC727878	rs12041567	LRRC7/DEPDC1
rs4765494	ZNF664/FAM101A	rs8035389	LOC100288892/ATPBD4
rs11967050	RNF144B/DEK	rs4873223	RB1CC1/NPBWR1
rs1773682	GPR158	rs4763458	LOC390298/LOC728622
rs10822476	ANXA2P3/CTNNA3	rs9819488	NCRNA00119
rs4901758	EXOC5/LOC440180	rs7900737	ANXA2P3/CTNNA3
rs10506962	DUSP6/KITLG	rs236584	KCNJ2/LOC100133226
rs741638	RBM19/TBX5	rs10223671	KU-MEL-3/PECI
rs4579104	STIM2/PCDH7	rs7981243	KIAA0774
rs12814098	NTF3/KCNA5	rs1685169	MTHFS/KIAA1024
rs989846	KIAA0774	rs877819	WDFY4
rs6858883	IRX4/IRX2	rs3908502	ACBD6/XPR1
rs7989399	SIAH3/SPERT	rs1435102	RYR3
rs4770309	FGF9/LOC646201	rs10402361	CEACAM1/CEACAM8
rs10996336	CTNNA3/ANXA2P3	rs2139509	MEIS2/TMCO5A
rs17048233	FAM19A4/C3orf64	rs4794257	FLJ42842/CA10
rs11607732	GRIK4	rs2307449	POLG
rs1492578	USP6NL/LOC439951	rs17523270	CYP19A1/LOC100288810
rs12329791	KCNJ15	rs3796224	PROK2
rs13384511	NRXN1	rs4741628	DMRT2/SMARCA2
rs10471537	FLJ37543/KIF2A	rs970946	TYRP1/C9orf150
rs1401813	DEPDC6	rs2204727	KLHL29/LOC100129278
rs7506899	CBLN2/SOCS6	rs1570235	RASSF2/PRNT
rs4903539	KIAA1737/C14orf4	rs12371617	NTF3/KCNA5
rs1178132	HDAC9	rs375819	ZNF703/KCNU1
rs9964652	CDH2/FLJ45994	rs854140	PLK2/ACTBL2
rs3776331	ARHGAP26	rs13156239	DAB2/LOC100127944
rs11874293	KIAA0427	rs8071471	CACNG5/PRKCA
rs924297	ST6GALNAC3/ST6GALNAC5	rs12536311	AMPH
rs11974031	LOC729852	rs156553	RBM46/LRAT

rs6733493	ACOXL	rs4146404	KIAA0774
rs6566624	CBLN2/SOCS6	rs1198588	FLJ35409/SNX7
rs11032400	LMO2/LOC646120	rs589636	IRG1
rs16886117	TRPS1/CSMD3	rs1375698	RUNX2/CLIC5
rs4515990	RAB30	rs16875579	CCDC129
rs6509133	ZNF230/ZNF222	rs6046975	C20orf74
rs2203020	DOCK5	rs17057104	PTK2B
rs2709639	DOCK5	rs4867947	LOC133874/FOX11
rs11674035	RAD51AP2/FAM49A	rs9933124	C16orf72/GRIN2A
rs12956846	APCDD1/VAPA	rs11043346	LOC728622/LOC390298
rs10518830	NEDD4	rs7133053	NTN4/SNRPF
rs595119	PRKG1	rs6879450	NIPAL4
rs4595529	ACCSL/LOC387763	rs1473258	NCRNA00052/AGBL1
rs9374352	LOC442249/LOC100287612	rs4660383	PPT1
rs4073713	SEMA4D	rs10771984	DNM1L
rs9921009	NCRNA00052/AGBL1	rs10745571	BTG1/DCN
rs10997242	CTNNA3	rs17359922	AEBP2/LOC400013
rs9543549	KLF12/LOC100288208	rs209489	ELOVL5
rs12349797	PTPRD	rs10136404	C14orf145/TSHR
rs4501824	RGS1/RGS13	rs2501441	CADPS2
rs7516560	CFHR1/CFHR4	rs7924699	NUP160/LOC100287189
rs2490136	C6orf138/MUT	rs4610629	RPL23P8/SP4
rs4736599	LRRC6/TMEM71	rs4572604	LOC728597/SOX11
rs6428369	CFHR1/CFHR4	rs4624883	NOX3/ARID1B
rs1255305	BMP4/DDHD1	rs9302570	LOC283867/CDH11
rs17360705	LOC100131700	rs1356433	WDR70
rs4656582	CD1D/KIRREL	rs342406	EDIL3
rs4533822	LOC100289626/PABPC4L	rs10844330	DNM1L
rs6428364	CFHR1/CFHR4	rs6811417	LCORL/SLIT2
rs6766572	LOC730129/OTOL1	rs7307769	NTN4/SNRPF
rs10808739	CYP7B1	rs2676364	CCDC54/LOC344595
rs437743	LOC100131871/DKFZp564N2472	rs795946	SYT1/NAV3
rs2116390	OPCML/LOC100128095	rs2157605	HLA-E/RPP21
rs7557519	ANKAR	rs12416899	LUZP2/ANO3
rs11635156	MCTP2/LOC440311	rs2883805	N4BP1/CBLN1
rs17102450	MAX/LOC645431	rs1117482	FAM19A5/LOC100289420

rs2201484	UBE2E2	rs1927830	KIAA0774
rs7679336	NDST4/TRAM1L1	rs1812991	LOC730456/MAD2L1
rs5012124	SLC10A2/DAOA	rs4423049	DPYD/FLJ35409
rs9871046	PCOLCE2	rs2280204	SLC2A9
rs7512241	UCHL5/RGS2	rs6131789	KIF16B/MACROD2
rs10913529	VAMP4	rs481515	LOC100129238/URB2
rs2066902	GRM8	rs11775757	CSMD1/LOC100287015
rs9322458	IPCEF1	rs2701516	MEIS2/TMCO5A
rs9842230	MAP3K13	rs10941351	WDR70
rs12799883	TPCN2/MYEOV	rs10976937	C9orf123/PTPRD
rs11970595	PHACTR1/LOC100289173	rs17796483	ACVR2A/PABPCP2
rs10125660	FLJ35024/SMARCA2	rs10514126	CYB5A/DKFZP781G0119
rs1422713	KCTD16	rs4718885	AUTS2/STAG3L4
rs1172151	TMCC2	rs10008	USP6NL
rs921573	NRXN1	rs1457990	FLRT2/SEL1L
rs6940542	C6orf138/MUT	rs10859971	CCDC38
rs453314	LRP1B	rs1876021	LOC100132713/GALR1
rs1233708	ZNF389/LOC222699	rs1436118	NTN4/SNRPF
rs17649250	VAMP4/METTL3	rs450320	FAT1
rs11184994	LOC100287317/PRMT6	rs536718	ST6GALNAC3/ST6GALNAC5
rs9324949	KCTD16	rs431626	ZNF703/KCNU1
rs3914272	PLD1/FLJ23172	rs7567386	SLC8A1/LOC400950
rs11995488	TMEM71/LRRC6	rs1835437	LOC645314/SLC39A10
rs13006169	LOC728597/SOX11	rs17531631	LOC26010
rs3769502	NCK2	rs1114734	C20orf54/SCRT2
rs9395414	MUT/C6orf138	rs1494230	UBE2E2/ZNF385D
rs10956215	MTSS1/LOC157381	rs235900	BAT2D1/MYOC
rs203884	ZSCAN12L1/LOC100129195	rs1546685	NLGN1/NAALADL2
rs921572	NRXN1	rs10494601	PLA2G4A/FAM5C
rs2943636	KIAA1486/IRS1	rs718794	STIM2/PCDH7
rs9625099	MN1/MIAT	rs10517227	PCDH7/ARAP2
rs4430517	LOC100128095/OPCML	rs1414773	LOC285768/LOC100288082
rs6078816	BTBD3/LOC100289040	rs6928174	COL21A1/BMP5
rs960963	KCTD16	rs726786	WDFY4
rs11799420	VAMP4/MYOC	rs2483858	DOCK1
rs317374	ACCN1	rs2489401	DOCK1

rs6932080	IRAK1BP1/HTR1B	rs10996304	CTNNA3/ANXA2P3
rs4691239	TLL1/SPOCK3	rs1990482	NANOG/SLC2A14
rs4768777	AMIGO2/LOC100233209	rs8129220	LOC100288117/C21orf131
rs518564	LRRC30/PTPRM	rs2836895	PSMG1/LOC100289305
rs6664219	B3GALNT2/GNG4	rs10502207	LOC100287201/CADM1
rs17119301	RDH16/GPR182	rs6069449	CBLN4/DOK5
rs6565823	ZNF516/LOC100289440	rs3786085	GAS7
rs7228749	LOC100289440/ZNF516	rs542444	SUPT3H
rs2186739	LOC100129203/FAM76B	rs11165939	FLJ35409/DPYD
rs317375	ACCN1	rs7121854	LOC387820/ETS1
rs244525	KCTD16	rs10240918	EIF3IP1/IMMP2L
rs7980502	C12orf74/CLLU1	rs7317751	C13orf28/SOX1
rs7533270	CFHR4	rs2300811	ZNF133/MGC44328
rs12706735	GRM8	rs2610021	PENK/IMPAD1
rs523329	RASGEF1B/LOC345258	rs4919513	KAZALD1/TD1
rs10772093	CD69/CLECL1	rs41513151	CADPS2
rs16907708	LOC100133047/ZBTB10	rs8093518	MC2R/LOC100289436
rs404369	DKFZp564N2472/LOC100131871	rs260659	EDAR/LOC100287216
rs1422716	KCTD16	rs10896448	TPCN2/MYE0V
rs2173057	UBE2E2	rs9813577	GALNTL2/ANKRD28
rs10271926	GRM8/POT1	rs34455702	CTSO/PDGFC
rs10142834	PPM1A	rs7922058	RNLS
rs6743151	LRPPRC/PPM1B	rs6538679	CCDC38
rs10496004	ASB3/LOC730100	rs16913417	FAM13C
rs707057	GALNT13	rs3736594	MRPL33
rs2834072	OLIG2/OLIG1	rs4872244	ADAM7/NEFM
rs2834074	OLIG2/OLIG1	rs4881235	LOC100130652/LOC727894
rs2837470	DSCAM	rs1016700	GRIK1/C21orf41
rs130862	LOC100289420/FAM19A5	rs2641479	KCNC2/LOC552889
rs778463	UBE2E2	rs11678782	KLHL29
rs3753539	VAMP4/METTL13	rs1396848	LUZP2
rs10489297	DNM3	rs6428798	WARS2
rs418874	LOC100289598/GBE1	rs9315986	DNAJC15
rs7536561	LHX4	rs904204	IRF8/LOC732275
rs2878610	SORCS2	rs7988007	LOC341689/PCDH17
rs17599823	KCTD8/LOC100289468	rs241278	AJAP1/LOC284661

rs669908	LOC345258/RASGEF1B	rs554339	KCTD1
rs1350191	SFRP2/DCHS2	rs1122424	NPLOC4
rs13116186	DCHS2	rs4497835	KLHL29
rs10520494	LOC100288304/LOC100288373	rs1345800	HEATR7B2
rs994228	GRAMD3/ZNF608	rs1488895	NAALADL2/TBL1XR1
rs1023679	KCTD16	rs1949060	ANXA2P3/CTNNA3
rs742520	LOC285768/FOXQ1	rs2043134	PDZRN4/CNTN1
rs1938214	C6orf138/MUT	rs12247217	CACNB2
rs4628097	C6orf138/MUT	rs6911432	LOC100289173/PHACTR1
rs1859810	CCDC129/LOC100289675	rs12447780	ZNF267/ZNF720
rs17683462	GRM8	rs1484488	LOC100131818/LOC729348
rs3925056	NRG1/FUT10	rs2936534	XKR5/AGPAT5
rs958381	EXT1	rs363449	GRIK1/C21orf41
rs1593398	TMEM71	rs6565631	TBC1D16/CBX4
rs1036328	PTPRD	rs363443	GRIK1/C21orf41
rs2416606	LOC100129489/LOC389787	rs17151293	LOC100131871/DKFZp564N2472
rs2805452	RYR2	rs171319	LOC284661/AJAP1
rs4746937	COL13A1	rs1492415	ADAM7/NEFM
rs860713	FTO	rs2250351	LOC119358/HTR7
rs4332781	FLJ42842/CA10	rs17461542	ADRB2/SH3TC2
rs4794298	CA10	rs3123041	PLA2G4A/FAM5C
rs1592717	C18orf20/CDH7	rs6907666	FGFR1OP/CCR6
rs4670034	SOX11/LOC728597	rs9294116	IRAK1BP1/HTR1B
rs4834495	NDST4/TRAM1L1	rs4726405	DPP6
rs2501460	LAMA2	rs11858238	ARPP19
rs361315	DDI1/PDGFD	rs844785	CALN1
rs3737413	APP	rs17525479	SPOCK3/ANXA10
rs9305274	APP	rs7229501	LOC284215/LOC642597
rs1938181	C6orf138/MUT	rs1421543	CDH7/C18orf20
rs2703198	CSMD1/LOC100287015	rs1861139	DPP6
rs10786222	SORBS1	rs10815933	PTPRD
rs358806	CACNA2D3/WNT5A	rs2733845	KLRK1
rs4912665	KCTD16	rs2733840	KLRK1/KLRC4
rs2568395	GRAMD3/ZNF608	rs16861195	TRIB2/FAM84A
rs1340186	SMARCA2	rs1382264	KLRC4/KLRK1
rs2421083	CNTNAP5	rs10226284	ZNF277



rs7034598	SHB/ALDH1B1	rs942869	SPERT/SIAH3
rs7114700	OR5D16/SPRYD5	rs1993425	SFRP2/DCHS2
rs41336947	LOC100288304/LOC100288373	rs11101520	WDFY4
rs7678041	PABPC4L/LOC100289626	rs17041897	GALNTL2/ANKRD28
rs12691219	ANKRD28	rs3351	KIDINS220
rs7130004	LOC100128095/OPCML	rs9316159	SIAH3/SPERT
rs7163891	MEX3B/TMC3	rs11027992	LUZP2
rs11579698	VAMP4/MYOC	rs2289226	ASNSD1
rs12202985	C6orf138/MUT	rs11505827	PION
rs3125253	SLC1A7/CPT2	rs16861198	TRIB2/FAM84A
rs10920880	FAM5C/RGS18	rs9944689	FHOD3
rs6770677	POU1F1/HTR1F	rs12260555	WDFY4
rs6504529	NOL11/SNORA38B	rs10426462	LILRA4/LAIR1
rs206302	OTOL1/LOC730129	rs11915265	CNTN4
rs2820950	KDM4C/C9orf123	rs17808125	C12orf59
rs11983182	C7orf4/LOC393076	rs2117327	PTPRD
rs456582	LOC285629/GABRB2	rs12472656	SPAG16
rs533571	FLJ32810	rs41534844	IMPAD1/PENK
rs10272371	PRKAR2B	rs956154	PTPRD
rs1563556	MSX2/DRD1	rs1036331	PTPRD
rs1026330	C18orf1	rs244524	KCTD16
rs6428143	RGS2/UCHL5	rs2094186	LOC100288208/LOC647288
rs17649050	VAMP4/METTL13	rs854379	GZMB/STXBP6
rs4626661	RFX3/GLIS3	rs10750733	GRIA4
rs6660484	TGFBR3	rs2470524	ANKRD28/LOC100288942
rs2041343	AMZ1	rs6719224	OSGEPL1/ORMDL1
rs1721396	LOC100288050/STARD3NL	rs12474979	TSN/LOC100288443
rs297108	OR5D14/OR5D13	rs1983753	GLIS3
rs73324	LOC100131397/ZNF622	rs1443493	KIF2B/TOM1L1
rs7440928	LOC100287564/GUCY1A3	rs6489233	LOC100288417/TMEM132C
rs8029354	LOC440311/MCTP2	rs6489234	LOC100288417/TMEM132C
rs6941498	SAMD5/SASH1	rs7974380	KSR2
rs7893296	BUB3/GPR26	rs10427222	SMEK2
rs11088229	C21orf49	rs3852637	PWRN2/NDN
rs1045812	RAB2B	rs699200	LOC119358/HTR7
rs7658065	EPHA5	rs17750960	LOC100129193/SLC46A2

rs11715035	UBE2E2	rs11136985	LOC100287015/CSMD1
rs11625034	BMP4/DDHD1	rs433706	SEC61B/NR4A3
rs17425839	PRKAR2B	rs4901761	EXOC5/LOC440180
rs10278110	ABCB5/ITGB8	rs6891527	DAP
rs2968668	CYTL1/MSX1	rs7235777	SETBP1
rs7751296	LOC100289173/PHACTR1	rs2652154	IRX4/IRX2
rs8191829	IGF2R	rs6580311	YIPF5/HMHB1
rs3791767	ORMDL1	rs6461856	CARD11/LOC100129603
rs4965518	LOC100289465	rs3935584	INPP5D
rs3102047	SLC1A7/CPT2	rs6955135	ZNF727/ZNF735
rs532876	ODZ4	rs7769656	EPHA7/MAP3K7
rs4706043	HTR1B/IRAK1BP1	rs3095465	FGL2/CCDC146
rs12779260	CUGBP2/USP6NL	rs17541654	ZW10
rs317376	ACCN1	rs41362847	LOC732275/FOXF1
rs1949102	TOX/CA8	rs7406829	NPLOC4
rs7826102	LOC100287015/CSMD1	rs6090338	SLCO4A1/NTSR1
rs1606072	CA8/TOX	rs2042860	TBX5/RBM19
rs613575	LOC100132679	rs10824657	LOC100132987/LOC283050
rs12433257	C14orf118	rs10796113	FRMD4A
rs1539920	CBLN2/SOCS6	rs220355	KIAA1217/PRINS
rs6919826	IRAK1BP1/HTR1B	rs854380	GZMB/STXBP6
rs4619807	UBE2E2/ZNF385D	rs10492444	DGKH
rs3114317	CCDC146	rs17835266	LOC399942/FAT3
rs4455042	CDH2/DSC3	rs13241939	ZNF735/ZNF727
rs4667295	ASNSD1/SLC40A1	rs4853163	MRPL19/FAM176A
rs1451404	LOC100288304/LOC285501	rs3735650	CALCR/CCDC132
rs9553394	LOC374491/ATP12A	rs10920259	NAV1/IPO9
rs17113589	LRFN5/FSCB	rs1530732	CACNA2D3
rs7512163	UCHL5/RGS2	rs10986626	PPP6C
rs17487140	SGIP1	rs1524759	LOC136157/GPR37
rs1432787	ATP10B	rs937130	GABRR3
rs9448292	IRAK1BP1/HTR1B	rs11957215	DAB2/LOC100127944
rs4303923	MSX1/CYTL1	rs1946998	CDS1
rs581098	RBBP8/CTAGE1	rs1523320	CNTN4
rs2071918	CAMTA1	rs10741051	KIAA1217/PRINS
rs4503943	SPAG16	rs7093161	MBL2/PCDH15

rs7752338	HTR1B/IRAK1BP1	rs11130713	LOC339902/C3orf67
rs10273787	ABC5/ITGB8	rs1539535	SVIL
rs6999100	TRIM55	rs890620	LOC100131409/ZEB2
rs10246008	SPAM1	rs9547912	POSTN/CSNK1A1L
rs16904685	KCNQ3	rs9649007	GPR37/LOC136157
rs33983617	LOC100289598/GBE1	rs9466024	SOX4/CDKAL1
rs2134224	CASR	rs260193	AKAP2/PALM2-AKAP2
rs10908622	CD1D/KIRREL	rs12144941	GREM2
rs11776707	LOC100289041/RIMS2	rs9563600	PCDH17/LOC341689
rs8016883	RPS29/MDGA2	rs13025749	C2orf3/LRRTM4
rs7144326	C14orf118	rs1178123	HDAC9
rs17151496	CDC123/CAMK1D	rs2154487	GRIK1/C21orf41
rs9434833	CAMTA1	rs17080323	UST
rs7201936	ZNRF1	rs7699871	NKX6-1/CDS1
rs3114316	CCDC146	rs5024296	SCN7A
rs10774719	RBM19	rs1533097	LOC100289434/STX18
rs2198103	EPHA5	rs11182194	ADAMTS20/PUS7L
rs335899	GRM8/POT1	rs10787156	XPNPEP1/LOC645318
rs17552671	EMX2/RAB11FIP2	rs11346	DNAJC15
rs7542235	CFHR4/CFHR1	rs4957300	LOC100127944/DAB2
rs778497	UBE2E2	rs1043291	C7orf27
rs9553395	LOC374491/ATP12A	rs11111839	LOC253724
rs6711618	CTNNA2/LOC100289658	rs2229126	ADRA1A
rs12751043	LOC100287317/LOC126987	rs837678	LEPREL1
rs13165386	KCTD16	rs2374688	CRY1/BTBD11
rs2955162	HSD17B2	rs6449213	SLC2A9
rs7852521	PRUNE2/FOXB2	rs2785980	LOC728510/SLC30A10
rs4832645	MYCN/FAM49A	rs1515577	FSTL1
rs9986833	LOC100287551/NDUFA4	rs7868093	PTPRD
rs16861236	XCL1/DPT	rs2639463	LOC100130539/HNRNPA3P1
rs9878603	C3orf58/PLOD2	rs9977882	NCRNA00158/NCAM2
rs7988031	ATP12A/LOC374491	rs7442295	SLC2A9
rs10789294	LRRC7/DEPDC1	rs1887103	PPM1A
rs6074095	ANKRD5/SNAP25	rs17055669	MANEA/FUT9
rs11070905	LOC283710/KLF13	rs9685238	CCRN4L/SLC7A11
rs13063547	CADPS/LOC285401	rs17094892	NELL2

rs4871690	LOC650095/FAM84B	rs7819013	TRPS1/CSMD3
rs6700644	INADL	rs753955	TNFRSF19/MIPEP
rs10821584	SLC16A9/CCDC6	rs1489816	FILIP1L
rs7583970	SPAG16	rs12737686	WDR64
rs11241841	GRAMD3/ZNF608	rs2878611	SORCS2
rs1428856	KCTD16	rs2828424	NCAM2/NCRNA00158
rs2074336	HIBADH/LOC100129463	rs2302352	NKTR
rs1692392	MAP1B/CARTPT	rs1002363	KIAA1239
rs6814800	APBB2	rs9289231	ROPN1/KALRN
rs17410049	CDH8/CDH11	rs2742115	OLR1
rs281839	PDZRN4/CNTN1	rs1465099	WVOX
rs1451170	EPHA5	rs11992681	LOC286177/IMPAD1
rs1997021	CDH2/DSC3	rs827640	GATA3/SFTA1P
rs316577	IRX2/IRX4	rs6035310	STK35/PDYN
rs4427965	SPAG16	rs10504244	FAM110B
rs10913511	MYOC/VAMP4	rs723464	LOC100128747/PCDH10
rs2357694	MTHFD1		

Seleccionados a partir de Bibliografía

SNP	Gen	SNP	Gen
rs11111839	LOC253724	rs17055669	MANEA/FUT9
rs2229126	ADRA1A	rs9685238	CCRN4L/SLC7A11
rs837678	LEPREL1	rs17094892	NELL2
rs2374688	CRY1/BTBD11	rs7819013	TRPS1/CSMD3
rs6449213	SLC2A9	rs753955	TNFRSF19/MIPEP
rs2785980	LOC728510/SLC30A10	rs1489816	FILIP1L
rs1515577	FSTL1	rs12737686	WDR64
rs7868093	PTPRD	rs2878611	SORCS2
rs2639463	LOC100130539/HNRNPA3P1	rs2828424	NCAM2/NCRNA00158
rs9977882	NCRNA00158/NCAM2	rs2302352	NKTR
rs7442295	SLC2A9	rs1002363	KIAA1239
rs1887103	PPM1A		

## Anexo 2

Tabla 51. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	69/553	766/5780	0.210	1	0.647
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	69/553	766/5780	0.204	1	0.651
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	4/61/246	35/696/2542	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	65/246	731/2542	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	4/307	35/3238	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	7/308	125/3190	1.969	1	0.161
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	7/110/198	125/1038/2152	3.270	2	0.195
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	117/198	1163/2152	0.535	1	0.465
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	124/506	1288/5342	0.024	1	0.876
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	124/506	1288/5342	0.024	1	0.877
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	226/86	2373/877	0.048	1	0.826
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	71/241	725/2525	0.033	1	0.856
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	71/155/86	725/1648/877	0.121	2	0.942
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	297/327	3098/3402	0.001	1	0.975
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	297/327	3098/3402	0.001	1	0.975
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	175/136	1756/1481	0.468	1	0.494
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	203/419	2055/4419	0.218	1	0.640
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	203/419	2055/4419	0.209	1	0.647
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	28/147/136	299/1457/1481	0.591	2	0.744
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	28/283	299/2938	0.019	1	0.892
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	167/141	1885/1299	2.876	1	0.090
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	200/416	2279/4089	2.750	1	0.097
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	200/416	2279/4089	2.705	1	0.100
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	33/134/141	394/1491/1299	2.989	2	0.224
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	33/275	394/2790	0.721	1	0.396
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	101/491	969/5261	0.965	1	0.326
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	101/491	969/5261	0.929	1	0.335
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	94/202	909/2206	0.864	1	0.353
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	7/289	60/3055	0.270	1	0.603
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	7/87/202	60/849/2206	0.969	2	0.616
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	7/286	106/2867	1.105	1	0.293
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	7/107/179	106/980/1887	2.318	2	0.314
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	114/179	1086/1887	0.650	1	0.420
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	121/465	1192/4754	0.125	1	0.724
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	121/465	1192/4754	0.120	1	0.729
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	87/229	961/2360	0.278	1	0.598
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	98/534	1078/5564	0.223	1	0.637
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	98/534	1078/5564	0.209	1	0.648
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	11/76/229	117/844/2360	0.294	2	0.864
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	11/305	117/3204	0.002	1	0.969

Tabla 51 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	12/305	104/3216	0.400	1	0.527
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	12/73/232	104/797/2419	0.507	2	0.776
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	85/232	901/2419	0.015	1	0.901
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	97/537	1005/5635	0.012	1	0.912
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	97/537	1005/5635	0.011	1	0.915
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	11/300	94/3165	0.424	1	0.515
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	96/526	981/5537	0.065	1	0.799
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	11/74/226	94/793/2372	0.446	2	0.800
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	96/526	981/5537	0.062	1	0.803
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	85/226	887/2372	0.002	1	0.966
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	81/551	768/5854	0.829	1	0.363
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	81/551	768/5854	0.787	1	0.375
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	8/308	62/3249	0.662	1	0.416
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	73/243	706/2605	0.541	1	0.462
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	8/65/243	62/644/2605	0.950	2	0.622
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	112/198	1107/2155	0.606	1	0.437
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	122/498	1205/5319	0.561	1	0.454
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	122/498	1205/5319	0.546	1	0.460
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	10/102/198	98/1009/2155	0.606	2	0.739
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	10/300	98/3164	0.047	1	0.828
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	84/548	953/5685	0.542	1	0.462
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	84/548	953/5685	0.536	1	0.464
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	4/76/236	65/823/2431	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	80/236	888/2431	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	4/312	65/3254	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	134/183	1554/1767	2.379	1	0.123
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	153/481	1780/4862	2.145	1	0.143
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	153/481	1780/4862	2.110	1	0.146
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	19/115/183	226/1328/1767	2.391	2	0.303
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	19/298	226/3095	0.303	1	0.582
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	49/239	456/2617	0.976	1	0.323
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	49/142/97	456/1606/1011	1.320	2	0.517
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	240/336	2518/3628	0.114	1	0.735
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	240/336	2518/3628	0.106	1	0.745
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	191/97	2062/1011	0.073	1	0.787
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	27/290	188/3120	4.165	1	<b>0.041</b>
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	27/110/180	188/1220/1900	4.314	2	0.116
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	164/470	1596/5020	0.957	1	0.328
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	164/470	1596/5020	0.956	1	0.328
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	137/180	1408/1900	0.051	1	0.822
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	21/280	271/2850	1.024	1	0.312
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	176/426	1923/4319	0.665	1	0.415
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	176/426	1923/4319	0.638	1	0.425
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	21/134/146	271/1381/1469	1.061	2	0.588
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	155/146	1652/1469	0.227	1	0.634

Tabla 51. (continuación) Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos. en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	96/508	1094/5372	0.427	1	0.514
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	96/508	1094/5372	0.415	1	0.520
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	4/88/210	82/930/2221	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	92/210	1012/2221	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	4/298	82/3151	NA	NA	NA
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	41/269	480/2763	0.561	1	0.454
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	240/380	2568/3918	0.192	1	0.661
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	240/380	2568/3918	0.185	1	0.667
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	41/158/111	480/1608/1155	0.591	2	0.744
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	199/111	2088/1155	0.005	1	0.946

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Tabla 52. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	140/472	656/2316	0.190	1	0.663
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	146/1078	689/5255	0.115	1	0.735
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	146/1078	689/5255	0.112	1	0.738
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	6/606	33/2939	0.080	1	0.778
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	6/134/472	33/623/2316	0.330	2	0.848
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	227/1013	1185/4835	1.258	1	0.262
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	227/1013	1185/4835	1.246	1	0.264
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	18/602	114/2896	1.147	1	0.284
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	209/411	1071/1939	0.789	1	0.374
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	18/191/411	114/957/1939	1.542	2	0.463
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	139/476	657/2290	0.028	1	0.868
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	588/642	2807/3087	0.013	1	0.908
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	588/642	2807/3087	0.013	1	0.908
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	449/166	2150/797	0.001	1	0.979
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	139/310/166	657/1493/797	0.029	2	0.986
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	52/556	275/2665	0.386	1	0.534
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	52/281/275	275/1323/1342	0.535	2	0.765
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	333/275	1598/1342	0.035	1	0.851
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	385/831	1873/4007	0.018	1	0.893
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	385/831	1873/4007	0.017	1	0.896
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	400/800	2079/3705	3.007	1	0.083
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	400/800	2079/3705	2.958	1	0.085
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	335/265	1717/1175	2.566	1	0.109
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	65/270/265	362/1355/1175	3.027	2	0.220
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	65/535	362/2530	1.313	1	0.252
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	179/409	824/1999	0.368	1	0.544
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	191/985	879/4767	0.346	1	0.556
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	191/985	879/4767	0.333	1	0.564
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	12/167/409	55/769/1999	0.369	2	0.832
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	12/576	55/2768	0.022	1	0.883

Tabla 52 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar maLB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	16/545	97/2608	0.749	1	0.387
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	16/195/350	97/892/1716	1.248	2	0.536
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	211/350	989/1716	0.220	1	0.639
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	227/895	1086/4324	0.015	1	0.903
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	227/895	1086/4324	0.014	1	0.905
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	161/461	887/2128	3.142	1	0.076
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	181/1063	995/5035	2.896	1	0.089
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	181/1063	995/5035	2.715	1	0.099
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	20/141/461	108/779/2128	3.149	2	0.207
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	20/602	108/2907	0.204	1	0.651
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	151/472	835/2179	3.140	1	0.076
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	169/1077	933/5095	2.944	1	0.086
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	169/1077	933/5095	2.752	1	0.097
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	18/133/472	98/737/2179	3.143	2	0.208
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	18/605	98/2916	0.219	1	0.640
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	150/464	822/2134	2.928	1	0.087
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	166/1062	911/5001	2.840	1	0.092
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	166/1062	911/5001	2.700	1	0.100
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	16/134/464	89/733/2134	2.931	2	0.231
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	16/598	89/2867	0.292	1	0.589
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	165/1077	684/5328	3.625	1	0.057
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	165/1077	684/5328	3.439	1	0.064
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	150/471	629/2377	3.183	1	0.074
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	15/135/471	55/574/2377	3.439	2	0.179
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	15/606	55/2951	0.933	1	0.334
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	226/385	993/1968	2.686	1	0.101
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	246/976	1081/4841	2.428	1	0.119
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	246/976	1081/4841	2.360	1	0.125
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	20/206/385	88/905/1968	2.686	2	0.261
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	20/591	88/2873	0.157	1	0.692
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	9/612	60/2954	0.811	1	0.368
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	9/157/455	60/742/2212	0.888	2	0.642
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	175/1067	862/5166	0.037	1	0.847
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	175/1067	862/5166	0.037	1	0.847
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	166/455	802/2212	0.004	1	0.950
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	269/355	1419/1595	3.278	1	0.070
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	44/225/355	201/1218/1595	4.104	2	0.129
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	313/935	1620/4408	1.735	1	0.188
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	313/935	1620/4408	1.707	1	0.191
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	44/580	201/2813	0.120	1	0.729
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	94/478	411/2378	1.071	1	0.301
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	94/285/193	411/1463/915	1.667	2	0.435
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	379/193	1874/915	0.187	1	0.665
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	473/671	2285/3293	0.062	1	0.804
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	473/671	2285/3293	0.057	1	0.811
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	45/575	170/2835	2.361	1	0.124
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	45/224/351	170/1106/1729	2.361	2	0.307
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	314/926	1446/4564	0.892	1	0.345
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	314/926	1446/4564	0.890	1	0.346
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	269/351	1276/1729	0.180	1	0.672



Tabla 52 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar maLB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	344/848	1755/3897	2.319	1	0.128
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	344/848	1755/3897	2.224	1	0.136
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	300/296	1507/1319	1.766	1	0.184
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	44/552	248/2578	1.224	1	0.269
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	44/256/296	248/1259/1319	2.336	2	0.311
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	10/590	76/2859	1.787	1	0.181
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	10/176/414	76/842/2017	1.821	2	0.402
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	196/1004	994/4876	0.264	1	0.607
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	196/1004	994/4876	0.256	1	0.613
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	186/414	918/2017	0.018	1	0.894
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	396/213	1891/1053	0.138	1	0.710
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	484/734	2324/3564	0.031	1	0.859
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	484/734	2324/3564	0.030	1	0.862
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	88/521	433/2511	0.027	1	0.870
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	88/308/213	433/1458/1053	0.224	2	0.894

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Tabla 53. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	43/327	877/6655	1.72E-04	1	0.990
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	43/327	877/6655	1.66E-04	1	0.990
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	1/41/143	39/799/2928	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	42/143	838/2928	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	1/184	39/3727	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	9/176	133/3681	0.978	1	0.323
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	9/57/119	133/1220/2461	1.021	2	0.600
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	75/295	1486/6142	0.142	1	0.706
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	75/295	1486/6142	0.140	1	0.708
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	66/119	1353/2461	0.003	1	0.956
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	47/136	818/2920	1.465	1	0.226
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	47/82/54	818/1909/1011	2.878	2	0.237
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	129/54	2727/1011	0.534	1	0.465
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	176/190	3545/3931	0.064	1	0.801
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	176/190	3545/3931	0.063	1	0.802
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	112/242	2387/5083	0.016	1	0.898
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	96/81	2044/1691	0.016	1	0.899
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	112/242	2387/5083	0.016	1	0.901
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	16/161	343/3392	0.004	1	0.948
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	16/80/81	343/1701/1691	0.017	2	0.992
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	26/155	456/3200	0.562	1	0.453
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	133/229	2617/4695	0.137	1	0.711
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	133/229	2617/4695	0.135	1	0.713
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	26/81/74	456/1705/1495	0.623	2	0.732
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	107/74	2161/1495	4.24E-06	1	0.998

Tabla 53 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	48/306	1101/6039	0.938	1	0.333
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	48/306	1101/6039	0.900	1	0.343
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	4/40/133	64/973/2533	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	44/133	1037/2533	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	4/173	64/3506	NA	NA	NA
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	75/90	1238/2208	6.179	1	<b>0.013</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	82/248	1354/5538	5.541	1	<b>0.019</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	82/248	1354/5538	5.351	1	<b>0.021</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	7/68/90	116/1122/2208	6.179	2	<b>0.046</b>
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	7/158	116/3330	0.367	1	0.544
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	49/323	1242/6398	2.497	1	0.114
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	49/323	1242/6398	2.358	1	0.125
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	2/45/139	134/974/2712	NA	NA	NA
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	47/139	1108/2712	NA	NA	NA
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	2/184	134/3686	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	48/324	1157/6483	1.394	1	0.238
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	48/324	1157/6483	1.318	1	0.251
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	2/44/140	118/921/2781	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	46/140	1039/2781	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	2/184	118/3702	NA	NA	NA
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	48/318	1133/6361	1.098	1	0.295
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	48/318	1133/6361	1.055	1	0.304
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	2/44/137	107/919/2721	NA	NA	NA
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	46/137	1026/2721	NA	NA	NA
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	2/181	107/3640	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	36/336	898/6720	1.530	1	0.216
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	36/336	898/6720	1.458	1	0.227
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	2/32/152	73/752/2984	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	34/152	825/2984	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	2/184	73/3736	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	8/175	111/3643	1.191	1	0.275
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	72/294	1383/6125	0.373	1	0.542
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	72/294	1383/6125	0.363	1	0.547
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	8/56/119	111/1161/2482	1.193	2	0.551
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	64/119	1272/2482	0.092	1	0.761
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	65/307	1066/6568	3.630	1	0.057
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	65/307	1066/6568	3.601	1	0.058
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	3/59/124	73/920/2824	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	62/124	993/2824	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	3/183	73/3744	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	80/106	1759/2061	0.659	1	0.417
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	14/66/106	257/1502/2061	1.136	2	0.567
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	94/278	2016/5624	0.231	1	0.631
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	94/278	2016/5624	0.229	1	0.632
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	14/172	257/3563	0.180	1	0.672

Tabla 53 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	32/139	531/3017	1.783	1	0.182
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	32/80/59	531/1859/1158	2.672	2	0.263
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	112/59	2390/1158	0.258	1	0.612
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	144/198	2921/4175	0.129	1	0.719
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	144/198	2921/4175	0.119	1	0.730
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	18/167	211/3598	5.731	1	<b>0.017</b>
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	18/68/99	211/1396/2202	5.969	2	0.051
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	104/266	1818/5800	3.488	1	0.062
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	104/266	1818/5800	3.478	1	0.062
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	86/99	1607/2202	1.334	1	0.248
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	11/161	312/3282	1.094	1	0.296
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	102/242	2235/4953	0.336	1	0.562
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	102/242	2235/4953	0.319	1	0.572
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	11/80/81	312/1611/1671	1.117	2	0.572
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	91/81	1923/1671	0.024	1	0.878
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	7/177	88/3628	1.522	1	0.217
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	7/49/128	88/1085/2543	1.915	2	0.384
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	56/128	1173/2543	0.104	1	0.747
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	63/305	1261/6171	0.006	1	0.938
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	63/305	1261/6171	0.006	1	0.939
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	122/58	2412/1323	0.770	1	0.380
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	149/211	2956/4514	0.498	1	0.481
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	149/211	2956/4514	0.474	1	0.491
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	27/95/58	544/1868/1323	0.782	2	0.676
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	27/153	544/3191	0.026	1	0.872

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Tabla 54. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar HTA bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P	
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	431/3211	510/3970	0.411	1	0.522
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	412/1409	488/1752	0.410	1	0.522
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	431/3211	510/3970	0.398	1	0.528
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	19/393/1409	22/466/1752	0.416	2	0.812
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	19/1802	22/2218	0.038	1	0.846
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	681/1157	775/1498	3.880	1	<b>0.049</b>
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	62/619/1157	87/688/1498	5.669	2	0.059
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	743/2933	862/3684	2.047	1	0.153
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	743/2933	862/3684	2.023	1	0.155
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	62/1776	87/2186	0.601	1	0.438

Tabla 54 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar HTA bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP		A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	1305/498	1635/595	0.445	1	0.505
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	403/902/498	491/1144/595	0.693	2	0.707
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	1708/1898	2126/2334	0.075	1	0.785
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	1708/1898	2126/2334	0.073	1	0.787
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	403/1400	491/1739	0.064	1	0.800
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	991/799	1216/1016	0.313	1	0.576
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	1155/2425	1422/3042	0.160	1	0.690
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	1155/2425	1422/3042	0.152	1	0.697
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	164/827/799	206/1010/1016	0.373	2	0.830
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	164/1626	206/2026	0.005	1	0.941
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	1049/713	1281/905	0.352	1	0.553
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	1267/2257	1556/2816	0.114	1	0.736
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	1267/2257	1556/2816	0.112	1	0.738
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	218/831/713	275/1006/905	0.515	2	0.773
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	218/1544	275/1911	0.039	1	0.844
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	523/2925	665/3587	0.339	1	0.560
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	523/2925	665/3587	0.324	1	0.569
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	493/1231	625/1501	0.297	1	0.586
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	30/1694	40/2086	0.107	1	0.744
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	30/463/1231	40/585/1501	0.343	2	0.842
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	696/2674	787/3273	1.930	1	0.165
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	696/2674	787/3273	1.855	1	0.173
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	634/1051	724/1306	1.527	1	0.217
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	62/1623	63/1967	0.940	1	0.332
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	62/572/1051	63/661/1306	1.998	2	0.368
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	531/3155	798/3750	14.830	1	<b>1.17E-04</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	531/3155	798/3750	13.940	1	<b>1.89E-04</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	479/1364	707/1567	12.910	1	<b>3.27E-04</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	52/427/1364	91/616/1567	13.980	2	<b>9.22E-04</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	52/1791	91/2183	4.230	1	<b>0.040</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	493/3197	748/3798	15.230	1	<b>9.51E-05</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	493/3197	748/3798	14.350	1	<b>1.52E-04</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	447/1398	668/1605	13.740	1	<b>2.10E-04</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	46/401/1398	80/588/1605	14.470	2	<b>7.20E-04</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	46/1799	80/2193	3.617	1	0.057
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	482/3116	735/3745	14.130	1	<b>1.71E-04</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	482/3116	735/3745	13.520	1	<b>2.36E-04</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	441/1358	661/1579	12.550	1	<b>3.97E-04</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	41/400/1358	74/587/1579	13.540	2	<b>1.15E-03</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	41/1758	74/2166	3.786	1	0.052
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	447/3233	513/4021	1.363	1	0.243
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	447/3233	513/4021	1.302	1	0.254
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	409/1431	475/1792	0.978	1	0.323
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	38/1802	38/2229	0.846	1	0.358
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	38/371/1431	38/437/1792	1.447	2	0.485

Tabla 54 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar HTA bajo los diferentes test genéticos en población general.

CHR	SNP	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P	
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	46/1766	75/2161	2.296	1	0.130
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	649/2975	845/3627	1.333	1	0.248
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	649/2975	845/3627	1.296	1	0.255
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	46/557/1209	75/695/1466	2.469	2	0.291
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	603/1209	770/1466	0.599	1	0.439
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	509/1333	570/1703	3.436	1	0.064
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	544/3140	613/3933	2.788	1	0.095
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	544/3140	613/3933	2.769	1	0.096
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	35/474/1333	43/527/1703	3.616	2	0.164
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	35/1807	43/2230	0.000	1	0.984
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	860/984	1034/1240	0.559	1	0.455
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	982/2706	1188/3360	0.272	1	0.602
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	982/2706	1188/3360	0.268	1	0.605
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	122/738/984	154/880/1240	0.748	2	0.688
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	122/1722	154/2120	0.040	1	0.842
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	1132/579	1431/684	0.962	1	0.327
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	266/866/579	313/1118/684	1.914	2	0.384
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	266/1445	313/1802	0.411	1	0.521
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	1398/2024	1744/2486	0.119	1	0.730
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	1398/2024	1744/2486	0.111	1	0.740
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	926/2752	1067/3467	2.984	1	0.084
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	926/2752	1067/3467	2.976	1	0.085
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	807/1032	942/1325	2.254	1	0.133
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	119/1720	125/2142	1.664	1	0.197
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	119/688/1032	125/817/1325	3.047	2	0.218
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	138/1598	195/1941	1.696	1	0.193
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	138/800/798	195/937/1004	2.819	2	0.244
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	938/798	1132/1004	0.413	1	0.520
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	1076/2396	1327/2945	0.005	1	0.944
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	1076/2396	1327/2945	0.005	1	0.946
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	46/1759	52/2153	0.151	1	0.698
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	566/1239	698/1507	0.041	1	0.840
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	46/520/1239	52/646/1507	0.241	2	0.886
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	612/2998	750/3660	0.004	1	0.948
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	612/2998	750/3660	0.004	1	0.949
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	1136/677	1461/749	5.181	1	<b>0.023</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	1390/2236	1790/2630	4.094	1	<b>0.043</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	1390/2236	1790/2630	3.901	1	<b>0.048</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	254/882/677	329/1132/749	5.190	2	0.075
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	254/1559	329/1881	0.618	1	0.432

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

---

## Anexo 3

Tabla 55. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar mALB (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3625	1.545 (1.014 - 2.354)	<b>0.043</b>	0.813
6	rs2259208	DSP	C	DOM	3492	0.816 (0.645 - 1.032)	0.090	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3638	0.832 (0.659 - 1.051)	0.123	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3630	0.580 (0.268 - 1.253)	0.166	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3535	0.515 (0.187 - 1.417)	0.199	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3266	0.662 (0.305 - 1.436)	0.297	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3422	0.788 (0.497 - 1.250)	0.313	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3361	1.177 (0.851 - 1.625)	0.324	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3411	1.122 (0.891 - 1.411)	0.326	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3627	1.114 (0.877 - 1.414)	0.375	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	3635	0.641 (0.232 - 1.773)	0.393	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3572	1.101 (0.863 - 1.404)	0.437	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3553	0.877 (0.622 - 1.236)	0.454	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	3548	1.085 (0.858 - 1.372)	0.494	1
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	3570	1.235 (0.653 - 2.331)	0.516	1
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	3637	1.217 (0.661 - 2.237)	0.528	1
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3584	0.918 (0.690 - 1.222)	0.561	1
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	3637	0.933 (0.720 - 1.208)	0.598	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	3562	0.971 (0.748 - 1.260)	0.826	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 56. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de log EUA (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3638	-0.046 (-0.086 - -0.006)	<b>0.024</b>	0.461
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3625	0.093 (0.008 - 0.178)	<b>0.031</b>	0.590
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	3627	0.043 (-0.005 - 0.092)	0.079	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	3572	0.026 (-0.010 - 0.063)	0.164	1
6	rs2259208	DSP	C	ADD	3492	-0.020 (-0.050 - 0.010)	0.194	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	ADD	3553	-0.017 (-0.047 - 0.012)	0.249	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	3535	-0.018 (-0.057 - 0.020)	0.346	1
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	3630	-0.016 (-0.052 - 0.019)	0.361	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3562	0.021 (-0.027 - 0.070)	0.385	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3361	-0.017 (-0.062 - 0.026)	0.433	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3266	-0.039 (-0.155 - 0.077)	0.511	1
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	3637	-0.012 (-0.049 - 0.025)	0.524	1
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	3422	-0.009 (-0.041 - 0.022)	0.557	1
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	3570	-0.011 (-0.049 - 0.027)	0.578	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	3635	-0.011 (-0.057 - 0.033)	0.604	1
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	3637	-0.009 (-0.047 - 0.028)	0.618	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	3584	0.040 (-0.154 - 0.234)	0.687	1
7	rs10486678	VPS41	A	REC	3411	0.021 (-0.127 - 0.169)	0.782	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	3548	0.003 (-0.036 - 0.044)	0.857	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 57. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el valor de ACR (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3582	1.404 (-0.091 - 2.899)	0.066	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	3560	-1.193 (-2.601 - 0.214)	0.097	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	3633	1.161 (-0.225 - 2.547)	0.101	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3409	1.139 (-0.295 - 2.573)	0.120	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	3533	0.995 (-0.364 - 2.356)	0.152	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3359	-1.000 (-2.411 - 0.409)	0.164	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3570	0.931 (-0.384 - 2.247)	0.165	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	3551	-0.889 (-2.199 - 0.420)	0.183	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	3264	0.953 (-0.462 - 2.369)	0.187	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3636	0.663 (-0.564 - 1.892)	0.290	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	3546	0.600 (-0.660 - 1.862)	0.351	1
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	3623	-0.528 (-1.772 - 0.714)	0.405	1
6	rs2259208	DSP	C	DOM	3490	0.549 (-0.746 - 1.846)	0.406	1
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	3628	-0.471 (-1.757 - 0.813)	0.472	1
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	3635	-0.463 (-1.816 - 0.889)	0.502	1
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	3568	-0.459 (-1.862 - 0.943)	0.521	1
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	3635	-0.450 (-1.829 - 0.928)	0.522	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	3625	-0.373 (-1.870 - 1.123)	0.625	1
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	3420	0.005 (-0.025 - 0.036)	0.737	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 58. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar mALB incluyendo los pre-microalbuminúricos (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3627	1.182 (0.990 - 1.412)	0.064	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	3638	0.851 (0.715 - 1.013)	0.070	1
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	3637	0.837 (0.688 - 1.019)	0.077	1
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	3637	0.834 (0.683 - 1.020)	0.077	1
6	rs2259208	DSP	C	ADD	3492	0.889 (0.778 - 1.015)	0.083	1
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	3570	0.839 (0.686 - 1.026)	0.087	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	3572	1.163 (0.970 - 1.394)	0.102	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3625	1.305 (0.928 - 1.835)	0.125	1
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	3422	0.896 (0.779 - 1.032)	0.128	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3535	0.637 (0.327 - 1.240)	0.185	1
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	3630	0.913 (0.780 - 1.070)	0.262	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3361	1.138 (0.890 - 1.453)	0.301	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	3635	0.724 (0.357 - 1.467)	0.370	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3266	0.789 (0.461 - 1.350)	0.388	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	3548	0.906 (0.664 - 1.236)	0.534	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3411	1.062 (0.875 - 1.288)	0.544	1
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3584	1.047 (0.850 - 1.289)	0.663	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	3553	1.035 (0.862 - 1.243)	0.710	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3562	1.018 (0.826 - 1.253)	0.868	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita



Tabla 59. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar ERC (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	3611	1.486 (1.085 - 2.035)	<b>0.013</b>	0.256
12	rs12322500	ERC1	A	REC	3994	1.838 (1.108 - 3.047)	<b>0.018</b>	0
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4003	1.422 (1.039 - 1.945)	<b>0.028</b>	1
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4006	0.299 (0.073 - 1.217)	0.092	1
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	4006	0.341 (0.083 - 1.390)	0.134	1
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	3930	0.375 (0.092 - 1.535)	0.173	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3719	1.308 (0.881 - 1.942)	0.183	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	3900	1.630 (0.744 - 3.572)	0.222	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	3921	1.234 (0.877 - 1.734)	0.227	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	3995	0.809 (0.574 - 1.141)	0.228	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3747	0.808 (0.570 - 1.145)	0.231	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	3937	1.500 (0.720 - 3.124)	0.278	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3766	0.718 (0.385 - 1.338)	0.298	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3999	1.415 (0.708 - 2.827)	0.325	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	3915	1.154 (0.838 - 1.588)	0.381	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	4006	0.884 (0.657 - 1.190)	0.417	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	3837	1.177 (0.768 - 1.804)	0.454	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	3951	0.519 (0.070 - 3.801)	0.519	1
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	3912	0.984 (0.778 - 1.245)	0.898	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 60. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de eGFR (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4006	8.090 (1.737 - 14.440)	<b>0.013</b>	0.240
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4003	-3.246 (-5.859 - -0.632)	<b>0.015</b>	0
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	3994	-2.819 (-5.150 - -0.488)	<b>0.018</b>	0
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	4006	1.939 (-0.272 - 4.151)	0.086	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	3995	2.451 (-0.351 - 5.254)	0.087	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3719	-2.741 (-6.076 - 0.595)	0.107	1
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	3930	1.702 (-0.548 - 3.952)	0.138	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3611	4.690 (-2.027 - 11.410)	0.171	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3747	1.634 (-0.757 - 4.024)	0.181	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	3900	1.615 (-0.906 - 4.136)	0.210	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	3999	-3.758 (-9.984 - 2.468)	0.237	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3766	2.172 (-2.083 - 6.428)	0.317	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	3837	-1.677 (-5.244 - 1.891)	0.357	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	3921	1.042 (-1.584 - 3.668)	0.437	1
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	3951	-1.072 (-3.857 - 1.714)	0.451	1
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	4006	-1.752 (-6.336 - 2.831)	0.454	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	3912	0.521 (-1.814 - 2.856)	0.662	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	3915	-0.720 (-4.018 - 2.577)	0.669	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	3937	0.768 (-6.037 - 7.574)	0.825	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 61. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar HTA (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	4118	0.793 (0.704 - 0.894)	<b>1.58E-04</b>	0.003
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	4117	0.801 (0.713 - 0.900)	<b>1.95E-04</b>	0.004
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	4039	0.795 (0.704 - 0.899)	<b>2.45E-04</b>	0.005
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	4023	0.860 (0.755 - 0.979)	<b>0.023</b>	0.435
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	4111	1.138 (1.001 - 1.294)	<b>0.049</b>	0.929
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4115	1.141 (0.992 - 1.311)	0.064	1
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	4106	1.093 (0.987 - 1.209)	0.085	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	4048	0.750 (0.517 - 1.089)	0.131	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3715	1.086 (0.966 - 1.220)	0.165	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3872	0.859 (0.684 - 1.080)	0.193	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4107	1.080 (0.946 - 1.232)	0.254	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3826	0.935 (0.816 - 1.070)	0.327	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	4118	1.048 (0.926 - 1.186)	0.455	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	4033	0.953 (0.829 - 1.096)	0.505	1
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	4061	1.046 (0.910 - 1.202)	0.522	1
6	rs2259208	DSP	C	DOM	3948	1.039 (0.914 - 1.181)	0.553	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3850	0.962 (0.847 - 1.094)	0.560	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	4022	1.036 (0.914 - 1.174)	0.576	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	4010	1.083 (0.724 - 1.618)	0.698	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 62. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de PAS (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI) 95%	P	BONF
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	4119	-1.827 (-2.981 - -0.673)	<b>0.002</b>	0.036
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	4120	-1.694 (-2.883 - -0.505)	<b>0.005</b>	0.100
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	4041	-1.713 (-2.925 - -0.501)	<b>0.006</b>	0.107
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	4112	1.544 (0.245 - 2.843)	<b>0.020</b>	0.377
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	3717	1.218 (0.028 - 2.407)	<b>0.045</b>	0.851
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4117	1.209 (-0.202 - 2.620)	0.093	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	4025	-0.976 (-2.291 - 0.338)	0.146	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	3828	1.313 (-0.480 - 3.107)	0.151	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	3950	-1.228 (-3.147 - 0.691)	0.210	1
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	3874	0.714 (-0.562 - 1.992)	0.273	1
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	4120	-1.265 (-3.750 - 1.221)	0.319	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	4035	-0.671 (-2.083 - 0.740)	0.351	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	4050	-1.573 (-5.256 - 2.110)	0.403	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	4107	1.060 (-1.571 - 3.691)	0.430	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	4011	1.625 (-2.463 - 5.714)	0.436	1
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	4063	0.405 (-1.001 - 1.813)	0.572	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	3850	-0.322 (-1.603 - 0.958)	0.622	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4109	-0.208 (-1.547 - 1.130)	0.760	1
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	4024	-0.136 (-1.111 - 0.838)	0.784	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 63. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de PAD (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI) 95%	P	BONF
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	4041	2.381 (0.309 - 4.453)	<b>0.024</b>	0.463
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	4120	2.229 (0.254 - 4.203)	<b>0.027</b>	0.513
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	4119	2.058 (0.197 - 3.919)	<b>0.030</b>	0.574
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	3717	2.215 (0.200 - 4.230)	<b>0.031</b>	0.594
16	rs8061801	CDH13	A	REC	3874	-0.998 (-2.255 - 0.258)	0.120	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	4050	-1.444 (-3.473 - 0.585)	0.163	1
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	4063	0.500 (-0.272 - 1.274)	0.205	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	3828	-0.479 (-1.237 - 0.277)	0.215	1
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	4112	0.419 (-0.294 - 1.133)	0.250	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	4024	-0.647 (-1.844 - 0.549)	0.289	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	4035	-0.420 (-1.199 - 0.357)	0.290	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	3950	-0.451 (-1.511 - 0.607)	0.404	1
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	4120	-0.565 (-1.932 - 0.802)	0.418	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	4117	0.318 (-0.459 - 1.095)	0.423	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	4011	0.230 (-0.434 - 0.895)	0.497	1
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	4107	-0.225 (-0.916 - 0.466)	0.524	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	4025	0.211 (-0.770 - 1.193)	0.673	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	3850	0.140 (-0.643 - 0.924)	0.726	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	4109	-0.119 (-0.855 - 0.617)	0.751	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

---

## Anexo 4

Tabla 64. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	1/16/71	6/153/609	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	18/158	165/1371	0.045	1	0.831
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	18/158	165/1371	0.044	1	0.834
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	17/71	159/609	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	1/87	6/762	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	2/38/51	25/254/495	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	42/140	304/1244	1.273	1	0.259
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	42/140	304/1244	1.204	1	0.273
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	40/51	279/495	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	2/89	25/749	NA	NA	NA
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	12/38/39	62/342/345	2.682	2	0.262
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	62/116	466/1032	1.077	1	0.299
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	62/116	466/1032	1.022	1	0.312
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	50/39	404/345	0.161	1	0.688
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	12/77	62/687	2.677	1	0.102
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	23/43/25	158/394/208	1.102	2	0.576
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	89/93	710/810	0.323	1	0.570
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	89/93	710/810	0.313	1	0.576
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	66/25	552/208	0.000	1	0.983
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	23/68	158/602	0.976	1	0.323
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	10/43/35	95/341/299	0.269	2	0.874
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	63/113	531/939	0.007	1	0.932
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	63/113	531/939	0.007	1	0.932
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	53/35	436/299	0.027	1	0.870
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	10/78	95/640	0.172	1	0.678
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	3/31/51	30/238/436	NA	NA	NA
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	37/133	298/1110	0.033	1	0.855
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	37/133	298/1110	0.033	1	0.857
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	34/51	268/436	NA	NA	NA
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	3/82	30/674	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	2/29/55	10/209/505	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	33/139	229/1219	1.406	1	0.236
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	33/139	229/1219	1.289	1	0.256
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	31/55	219/505	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	2/84	10/714	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	5/18/69	19/179/578	3.100	2	0.212
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	28/156	217/1335	0.195	1	0.659
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	28/156	217/1335	0.207	1	0.649
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	23/69	198/578	0.012	1	0.915
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	5/87	19/757	2.728	1	0.099

Tabla 64 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	5/18/66	15/179/560	4.839	2	0.089
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	28/150	209/1299	0.447	1	0.504
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	28/150	209/1299	0.461	1	0.497
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	23/66	194/560	0.001	1	0.982
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	5/84	15/739	4.525	1	<b>0.033</b>
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	5/19/68	24/192/560	1.951	2	0.377
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	29/155	240/1312	0.010	1	0.919
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	29/155	240/1312	0.011	1	0.916
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	24/68	216/560	0.126	1	0.723
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	5/87	24/752	1.397	1	0.237
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	3/23/66	16/165/593	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	29/155	197/1351	1.280	1	0.258
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	29/155	197/1351	1.335	1	0.248
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	26/66	181/593	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	3/89	16/758	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	1/30/60	17/225/518	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	32/150	259/1261	0.036	1	0.850
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	32/150	259/1261	0.034	1	0.854
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	31/60	242/518	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	1/90	17/743	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	6/34/52	56/311/409	0.483	2	0.786
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	46/138	423/1129	0.428	1	0.513
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	46/138	423/1129	0.424	1	0.515
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	40/52	367/409	0.481	1	0.488
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	6/86	56/720	0.060	1	0.807
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	2/22/68	15/200/560	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	26/158	230/1320	0.067	1	0.796
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	26/158	230/1320	0.066	1	0.798
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	24/68	215/560	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	2/90	15/760	NA	NA	NA
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	10/37/33	117/368/231	2.793	2	0.248
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	57/103	602/830	2.565	1	0.109
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	57/103	602/830	2.441	1	0.118
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	47/33	485/231	2.622	1	0.105
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	10/70	117/599	0.792	1	0.374
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	8/37/47	48/283/443	1.637	2	0.441
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	53/131	379/1169	1.619	1	0.203
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	53/131	379/1169	1.640	1	0.200
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	45/47	331/443	1.265	1	0.261
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	8/84	48/726	0.846	1	0.358

Tabla 64 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	6/39/44	48/336/342	0.197	2	0.906
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	51/127	432/1020	0.103	1	0.749
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	51/127	432/1020	0.092	1	0.762
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	45/44	384/342	0.173	1	0.678
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	6/83	48/678	0.002	1	0.963
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	1/19/65	27/237/501	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	21/149	291/1239	4.561	1	<b>0.033</b>
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	21/149	291/1239	4.538	1	<b>0.033</b>
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	20/65	264/501	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	1/84	27/738	NA	NA	NA
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	12/48/31	108/367/286	0.670	2	0.716
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	72/110	583/939	0.112	1	0.738
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	72/110	583/939	0.108	1	0.742
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	60/31	475/286	0.430	1	0.512
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	12/79	108/653	0.068	1	0.795

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Tabla 65. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	1/33/135	6/136/545	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	35/303	148/1226	0.051	1	0.821
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	35/303	148/1226	0.049	1	0.824
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	34/135	142/545	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	1/168	6/681	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	4/63/105	23/229/441	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	71/273	275/1111	0.116	1	0.733
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	71/273	275/1111	0.110	1	0.740
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	67/105	252/441	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	4/168	23/670	NA	NA	NA
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	18/71/76	56/309/308	1.251	2	0.535
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	107/223	421/925	0.170	1	0.680
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	107/223	421/925	0.161	1	0.688
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	89/76	365/308	0.005	1	0.946
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	18/147	56/617	1.103	1	0.294
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	41/79/51	140/358/182	2.311	2	0.315
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	161/181	638/722	0.003	1	0.956
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	161/181	638/722	0.003	1	0.957
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	120/51	498/182	0.643	1	0.423
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	41/130	140/540	0.937	1	0.333

Tabla 65 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	16/73/73	89/311/261	2.420	2	0.298
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	105/219	489/833	2.396	1	0.122
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	105/219	489/833	2.369	1	0.124
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	89/73	400/261	1.678	1	0.195
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	16/146	89/572	1.505	1	0.220
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	7/52/95	26/217/392	0.066	2	0.967
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	66/242	269/1001	0.009	1	0.923
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	66/242	269/1001	0.009	1	0.924
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	59/95	243/392	0.000	1	0.992
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	7/147	26/609	0.063	1	0.802
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	2/54/107	10/184/453	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	58/268	204/1090	0.861	1	0.354
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	58/268	204/1090	0.789	1	0.375
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	56/107	194/453	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	2/161	10/637	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	6/34/133	18/163/514	1.426	2	0.490
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	46/300	199/1191	0.224	1	0.636
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	46/300	199/1191	0.239	1	0.625
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	40/133	181/514	0.623	1	0.430
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	6/167	18/677	0.397	1	0.528
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	5/34/128	15/163/498	1.306	2	0.520
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	44/290	193/1159	0.260	1	0.610
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	44/290	193/1159	0.269	1	0.604
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	39/128	178/498	0.621	1	0.431
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	5/162	15/661	0.347	1	0.556
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	7/35/131	22/176/497	2.139	2	0.343
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	49/297	220/1170	0.548	1	0.459
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	49/297	220/1170	0.587	1	0.444
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	42/131	198/497	1.228	1	0.268
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	7/166	22/673	0.333	1	0.564
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	5/46/122	14/142/537	3.733	2	0.155
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	56/290	170/1216	3.593	1	0.058
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	56/290	170/1216	3.749	1	0.053
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	51/122	156/537	3.696	1	0.055
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	5/168	14/679	0.488	1	0.485
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	4/53/113	14/202/465	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	61/279	230/1132	0.226	1	0.634
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	61/279	230/1132	0.213	1	0.644
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	57/113	216/465	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	4/166	14/667	NA	NA	NA



Tabla 65 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar mALB incluyendo a los pre-microalbuminúricos bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	11/60/102	51/285/359	2.972	2	0.226
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	82/264	387/1003	2.430	1	0.119
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	82/264	387/1003	2.411	1	0.121
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	71/102	336/359	2.968	1	0.085
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	11/162	51/644	0.201	1	0.654
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	3/45/125	14/177/503	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	51/295	205/1183	0.000	1	0.989
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	51/295	205/1183	0.000	1	0.989
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	48/125	191/503	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	3/170	14/680	NA	NA	NA
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	21/74/58	106/331/206	2.110	2	0.348
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	116/190	543/743	1.995	1	0.158
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	116/190	543/743	1.898	1	0.168
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	95/58	437/206	1.922	1	0.166
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	21/132	106/537	0.702	1	0.402
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	12/68/93	44/252/397	0.703	2	0.704
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	92/254	340/1046	0.619	1	0.432
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	92/254	340/1046	0.627	1	0.429
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	80/93	296/397	0.702	1	0.402
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	12/161	44/649	0.079	1	0.779
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	11/69/85	43/306/301	1.545	2	0.462
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	91/239	392/908	0.936	1	0.333
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	91/239	392/908	0.839	1	0.360
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	80/85	349/301	1.431	1	0.232
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	11/154	43/607	0.001	1	0.981
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	4/46/115	24/210/451	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	54/276	258/1112	1.087	1	0.297
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	54/276	258/1112	1.081	1	0.298
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	50/115	234/451	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	4/161	24/661	NA	NA	NA
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	21/85/64	99/330/253	0.536	2	0.765
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	127/213	528/836	0.218	1	0.641
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	127/213	528/836	0.212	1	0.645
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	106/64	429/253	0.018	1	0.894
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	21/149	99/583	0.526	1	0.468

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

Tabla 66. Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
3	rs10510377	GRM7	C	G	GENO	1/6/32	7/181/705	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	TREND	8/70	195/1591	0.035	1	0.852
3	rs10510377	GRM7	C	G	ALLELIC	8/70	195/1591	0.034	1	0.854
3	rs10510377	GRM7	C	G	DOM	7/32	188/705	NA	NA	NA
3	rs10510377	GRM7	C	G	REC	1/38	7/886	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	GENO	0/8/31	28/316/560	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	TREND	8/70	372/1436	5.308	1	<b>0.021</b>
3	rs9875077	KALRN	G	A	ALLELIC	8/70	372/1436	4.949	1	<b>0.026</b>
3	rs9875077	KALRN	G	A	DOM	8/31	344/560	NA	NA	NA
3	rs9875077	KALRN	G	A	REC	0/39	28/876	NA	NA	NA
4	rs4577579	lincRNA	G	C	GENO	2/13/20	79/402/397	NA	NA	NA
4	rs4577579	lincRNA	G	C	TREND	17/53	560/1196	1.899	1	0.168
4	rs4577579	lincRNA	G	C	ALLELIC	17/53	560/1196	1.801	1	0.180
4	rs4577579	lincRNA	G	C	DOM	15/20	481/397	NA	NA	NA
4	rs4577579	lincRNA	G	C	REC	2/33	79/799	NA	NA	NA
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	GENO	10/18/11	195/449/242	0.385	2	0.825
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	TREND	38/40	839/933	0.057	1	0.811
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	ALLELIC	38/40	839/933	0.056	1	0.813
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	DOM	28/11	644/242	0.015	1	0.903
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	G	REC	10/29	195/691	0.286	1	0.593
6	rs2259208	DSP	C	T	GENO	7/14/15	108/400/348	1.715	2	0.424
6	rs2259208	DSP	C	T	TREND	28/44	616/1096	0.255	1	0.614
6	rs2259208	DSP	C	T	ALLELIC	28/44	616/1096	0.253	1	0.615
6	rs2259208	DSP	C	T	DOM	21/15	508/348	0.015	1	0.904
6	rs2259208	DSP	C	T	REC	7/29	108/748	1.434	1	0.231
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	GENO	1/11/23	32/272/520	NA	NA	NA
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	TREND	13/57	336/1312	0.139	1	0.709
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	ALLELIC	13/57	336/1312	0.137	1	0.711
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	DOM	12/23	304/520	NA	NA	NA
7	rs13232567	NPY/STK31	T	C	REC	1/34	32/792	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	GENO	0/9/27	13/246/586	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	TREND	9/63	272/1418	0.723	1	0.395
7	rs10486678	VPS41	A	G	ALLELIC	9/63	272/1418	0.666	1	0.415
7	rs10486678	VPS41	A	G	DOM	9/27	259/586	NA	NA	NA
7	rs10486678	VPS41	A	G	REC	0/36	13/832	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	GENO	0/6/33	22/207/678	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	TREND	6/72	251/1563	2.311	1	0.129
7	rs3114316	CCDC146	C	T	ALLELIC	6/72	251/1563	2.405	1	0.121
7	rs3114316	CCDC146	C	T	DOM	6/33	229/678	NA	NA	NA
7	rs3114316	CCDC146	C	T	REC	0/39	22/885	NA	NA	NA

Tabla 66 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
7	rs3114317	CCDC146	T	C	GENO	0/6/32	18/207/654	NA	NA	NA
7	rs3114317	CCDC146	T	C	TREND	6/70	243/1515	2.160	1	0.142
7	rs3114317	CCDC146	T	C	ALLELIC	6/70	243/1515	2.182	1	0.140
7	rs3114317	CCDC146	T	C	DOM	6/32	225/654	NA	NA	NA
7	rs3114317	CCDC146	T	C	REC	0/38	18/861	NA	NA	NA
7	rs3108427	CCDC146	A	G	GENO	0/7/32	28/221/658	NA	NA	NA
7	rs3108427	CCDC146	A	G	TREND	7/71	277/1537	2.202	1	0.138
7	rs3108427	CCDC146	A	G	ALLELIC	7/71	277/1537	2.324	1	0.127
7	rs3108427	CCDC146	A	G	DOM	7/32	249/658	NA	NA	NA
7	rs3108427	CCDC146	A	G	REC	0/39	28/879	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	GENO	0/7/32	21/200/683	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	TREND	7/71	242/1566	1.218	1	0.270
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	ALLELIC	7/71	242/1566	1.269	1	0.260
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	DOM	7/32	221/683	NA	NA	NA
7	rs6972824	PTPRN2	A	C	REC	0/39	21/883	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	GENO	0/14/24	18/271/600	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	TREND	14/62	307/1471	0.073	1	0.787
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	ALLELIC	14/62	307/1471	0.068	1	0.795
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	DOM	14/24	289/600	NA	NA	NA
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	A	REC	0/38	18/871	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	GENO	1/15/23	64/358/485	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	TREND	17/61	486/1328	0.966	1	0.326
9	rs2820950	KDM4C	T	C	ALLELIC	17/61	486/1328	0.957	1	0.328
9	rs2820950	KDM4C	T	C	DOM	16/23	422/485	NA	NA	NA
9	rs2820950	KDM4C	T	C	REC	1/38	64/843	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	GENO	0/12/27	17/231/657	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	TREND	12/66	265/1545	0.034	1	0.854
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	ALLELIC	12/66	265/1545	0.033	1	0.856
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	DOM	12/27	248/657	NA	NA	NA
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	T	REC	0/39	17/888	NA	NA	NA
10	rs877819	WDFY4	G	A	GENO	11/16/8	133/428/272	6.051	2	<b>0.049</b>
10	rs877819	WDFY4	G	A	TREND	38/32	694/972	4.619	1	<b>0.032</b>
10	rs877819	WDFY4	G	A	ALLELIC	38/32	694/972	4.394	1	<b>0.036</b>
10	rs877819	WDFY4	G	A	DOM	27/8	561/272	1.475	1	0.225
10	rs877819	WDFY4	G	A	REC	11/24	133/700	5.803	1	<b>0.016</b>
12	rs12322500	ERC1	A	G	GENO	5/16/18	53/327/525	4.112	2	0.128
12	rs12322500	ERC1	A	G	TREND	26/52	433/1377	3.554	1	0.059
12	rs12322500	ERC1	A	G	ALLELIC	26/52	433/1377	3.599	1	0.058
12	rs12322500	ERC1	A	G	DOM	21/18	380/525	2.151	1	0.142
12	rs12322500	ERC1	A	G	REC	5/34	53/852	3.145	1	0.076

Tabla 66 (continuación). Asociación de los 20 marcadores seleccionados para la validación con el riesgo de presentar ERC bajo los diferentes test genéticos en población hipertensa.

CHR	SNP	GENE	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	P
16	rs8061801	CDH13	A	G	GENO	2/16/18	61/398/391	NA	NA	NA
16	rs8061801	CDH13	A	G	TREND	20/52	520/1180	0.287	1	0.592
16	rs8061801	CDH13	A	G	ALLELIC	20/52	520/1180	0.258	1	0.612
16	rs8061801	CDH13	A	G	DOM	18/18	459/391	NA	NA	NA
16	rs8061801	CDH13	A	G	REC	2/34	61/789	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	GENO	2/9/27	27/266/597	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	TREND	13/63	320/1460	0.038	1	0.846
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	ALLELIC	13/63	320/1460	0.038	1	0.846
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	DOM	11/27	293/597	NA	NA	NA
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	C	REC	2/36	27/863	NA	NA	NA
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	GENO	6/23/7	125/439/329	4.580	2	0.101
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	TREND	35/37	689/1097	3.069	1	0.080
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	ALLELIC	35/37	689/1097	2.930	1	0.087
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	DOM	29/7	564/329	4.537	1	<b>0.033</b>
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	A	REC	6/30	125/768	0.204	1	0.652

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; A2: alelo mayoritario; CHISQ: valor estadístico Chi-cuadrado; DF: grados de libertad; P: p.valor sin ajustar

## Anexo 5

Tabla 67. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar mALB en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	850	0.598 (0.371 - 0.963)	<b>0.035</b>	<b>6.56E-01</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	843	2.933 (1.040 - 8.272)	<b>0.042</b>	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	838	1.727 (0.891 - 3.346)	0.106	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	796	0.678 (0.423 - 1.087)	0.107	1
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	868	2.290 (0.834 - 6.286)	0.108	1
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	865	1.392 (0.896 - 2.159)	0.140	1
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	866	1.244 (0.887 - 1.744)	0.204	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	810	1.294 (0.844 - 1.982)	0.237	1
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	868	1.801 (0.670 - 4.840)	0.244	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	866	1.269 (0.838 - 1.921)	0.259	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	851	1.289 (0.778 - 2.134)	0.324	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	851	0.486 (0.063 - 3.692)	0.485	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	868	0.857 (0.554 - 1.325)	0.488	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	852	1.165 (0.737 - 1.842)	0.512	1
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	815	0.910 (0.586 - 1.415)	0.678	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	823	0.863 (0.432 - 1.727)	0.678	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	856	1.460 (0.173 - 12.270)	0.728	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	DOM	789	1.085 (0.684 - 1.718)	0.729	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	867	0.919 (0.562 - 1.502)	0.737	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 68. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de log EUA en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	843	0.291 (0.005 - 0.577)	<b>0.046</b>	0.878
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	866	0.096 (-0.004 - 0.196)	0.062	1
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	868	0.206 (-0.054 - 0.468)	0.122	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	850	-0.058 (-0.137 - 0.020)	0.148	1
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	856	-0.078 (-0.185 - 0.028)	0.150	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	838	0.112 (-0.040 - 0.265)	0.151	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	868	-0.061 (-0.147 - 0.024)	0.161	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	851	0.061 (-0.044 - 0.167)	0.253	1
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	868	0.137 (-0.101 - 0.376)	0.259	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	789	-0.040 (-0.119 - 0.038)	0.316	1
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	815	-0.045 (-0.135 - 0.043)	0.316	1
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	865	0.044 (-0.044 - 0.1333)	0.331	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	851	0.045 (-0.047 - 0.138)	0.337	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	866	0.083 (-0.091 - 0.258)	0.352	1
6	rs2259208	DSP	C	DOM	823	-0.041 (-0.131 - 0.048)	0.367	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	867	0.112 (-0.197 - 0.422)	0.477	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	796	-0.043 (-0.165 - 0.079)	0.489	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	810	-0.024 (-0.120 - 0.071)	0.620	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	ADD	852	-0.008 (-0.072 - 0.055)	0.793	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 69. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el valor de ACR en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	866	0.059 (0.006 - 0.113)	<b>0.029</b>	0.560
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	850	-0.055 (-0.110 - -0.001)	<b>0.048</b>	1
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	866	0.040 (-0.001 - 0.082)	0.062	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	815	0.097 (-0.010 - 0.205)	0.079	1
3	rs9875077	KALRN	G	DOM	865	0.043 (-0.011 - 0.097)	0.118	1
7	rs10486678	VPS41	A	REC	810	0.152 (-0.067 - 0.371)	0.174	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	852	-0.047 (-0.123 - 0.028)	0.222	1
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	796	-0.017 (-0.050 - 0.016)	0.312	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	789	-0.069 (-0.210 - 0.071)	0.334	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	823	-0.037 (-0.118 - 0.044)	0.372	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	851	-0.022 (-0.073 - 0.028)	0.392	1
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	868	-0.024 (-0.083 - 0.033)	0.404	1
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	843	-0.026 (-0.087 - 0.035)	0.405	1
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	868	-0.025 (-0.085 - 0.034)	0.410	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	838	-0.019 (-0.073 - 0.034)	0.479	1
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	868	0.036 (-0.065 - 0.137)	0.482	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	DOM	851	-0.011 (-0.070 - 0.048)	0.717	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	867	0.028 (-0.159 - 0.217)	0.765	1
3	rs10510377	GRM7	C	ADD	856	-0.007 (-0.068 - 0.054)	0.821	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 70. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar mALB incluyendo los pre-microalbuminúricos en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	866	1.439 (0.991 - 2.088)	0.055	<b>1</b>
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	868	0.743 (0.530 - 1.042)	0.086	1
6	rs2259208	DSP	C	ADD	823	0.814 (0.628 - 1.057)	0.122	1
10	rs877819	WDFY4	G	ADD	796	0.827 (0.636 - 1.077)	0.158	1
16	rs8061801	CDH13	A	DOM	815	0.811 (0.576 - 1.143)	0.232	1
7	rs3108427	CCDC146	A	DOM	868	0.804 (0.548 - 1.182)	0.268	1
7	rs10486678	VPS41	A	DOM	810	1.222 (0.848 - 1.759)	0.281	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	838	1.349 (0.770 - 2.364)	0.295	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	850	0.842 (0.610 - 1.163)	0.298	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	851	1.216 (0.817 - 1.810)	0.334	1
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	866	1.154 (0.825 - 1.612)	0.402	1
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	868	0.854 (0.577 - 1.264)	0.430	1
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	843	0.852 (0.573 - 1.268)	0.431	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	852	0.830 (0.501 - 1.374)	0.469	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	865	0.693 (0.236 - 2.033)	0.505	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	ADD	851	1.081 (0.784 - 1.490)	0.634	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	856	0.675 (0.080 - 5.649)	0.717	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	789	1.115 (0.474 - 2.620)	0.802	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	867	0.857 (0.243 - 3.016)	0.810	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 71. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y el riesgo de presentar ERC en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	OR (CI 95%)	P	BONF
10	rs877819	WDFY4	G	REC	868	2.412 (1.154 - 5.043)	<b>0.019</b>	0.366
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	943	0.421 (0.197 - 0.897)	<b>0.025</b>	0.475
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	DOM	929	2.417 (1.047 - 5.578)	<b>0.039</b>	1
12	rs12322500	ERC1	A	ADD	944	1.581 (0.977 - 2.558)	0.062	1
7	rs3114316	CCDC146	C	ADD	946	0.529 (0.230 - 1.219)	0.135	1
7	rs3108427	CCDC146	A	ADD	946	0.561 (0.259 - 1.217)	0.144	1
7	rs3114317	CCDC146	T	ADD	917	0.536 (0.231 - 1.247)	0.148	1
4	rs4577579	lincRNA	G	DOM	913	0.619 (0.312 - 1.225)	0.168	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	892	1.672 (0.714 - 3.910)	0.236	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	932	3.331 (0.399 - 27.76)	0.266	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	943	0.648 (0.298 - 1.409)	0.274	1
9	rs2820950	KDM4C	T	REC	946	0.346 (0.046 - 2.566)	0.300	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	881	0.728 (0.349 - 1.517)	0.397	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	REC	928	1.776 (0.406 - 7.758)	0.445	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	927	1.211 (0.617 - 2.376)	0.578	1
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	886	0.859 (0.494 - 1.495)	0.592	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	925	1.222 (0.585 - 2.551)	0.594	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	DOM	944	1.177 (0.587 - 2.360)	0.645	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	859	0.888 (0.478 - 1.651)	0.709	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 72. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de eGFR en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	944	-6.761 (-11.950 - -1.573)	<b>0.011</b>	0.205
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	946	13.400 (-1.746 - 28.540)	0.083	1
16	rs8061801	CDH13	A	REC	886	-8.841 (-19.050 - 1.365)	0.090	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	944	15.400 (-3.953 - 34.740)	0.119	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	ADD	928	3.726 (-1.088 - 8.539)	0.130	1
7	rs3114317	CCDC146	T	DOM	917	4.493 (-1.518 - 10.500)	0.143	1
7	rs3114316	CCDC146	C	DOM	946	4.212 (-1.730 - 10.150)	0.165	1
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	943	3.367 (-1.892 - 8.626)	0.210	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	929	-4.351 (-11.750 - 3.051)	0.250	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	943	8.835 (-6.325 - 23.990)	0.254	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	932	-15.120 (-43.260 - 13.010)	0.292	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	859	-7.148 (-21.060 - 6.763)	0.314	1
7	rs10486678	VPS41	A	REC	881	10.880 (-11.340 - 33.110)	0.337	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	927	-8.494 (-27.360 - 10.370)	0.378	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	925	2.465 (-3.813 - 8.744)	0.442	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	868	-2.653 (-9.787 - 4.480)	0.466	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	946	-1.597 (-6.748 - 3.554)	0.544	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	913	1.159 (-8.071 - 10.390)	0.806	1
6	rs2259208	DSP	C	DOM	892	-0.6732 (-6.071 - 4.725)	0.807	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor <0.05 en negrita

Tabla 73. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de PAS en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
7	rs6972824	PTPRN2	A	DOM	973	-4.551 (-6.933 - -2.169)	<b>1.92E-04</b>	<b>3.64E-03</b>
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	DOM	956	2.107 (-0.107 - 4.322)	0.063	1
6	rs2259208	DSP	C	DOM	922	-1.990 (-4.126 - 0.146)	0.068	1
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	976	-6.056 (-12.560 - 0.447)	0.068	1
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	946	-5.827 (-12.880 - 1.223)	0.106	1
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	976	-4.316 (-10.180 - 1.547)	0.149	1
4	rs4577579	lincRNA	G	ADD	943	-1.188 (-2.812 - 0.436)	0.152	1
3	rs9875077	KALRN	G	ADD	973	1.264 (-0.597 - 3.125)	0.184	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	ADD	888	1.308 (-0.623 - 3.239)	0.185	1
10	rs877819	WDFY4	G	REC	895	1.838 (-1.054 - 4.731)	0.213	1
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	976	-1.203 (-3.265 - 0.859)	0.253	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	REC	974	-3.926 (-11.370 - 3.515)	0.301	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	957	-1.073 (-3.282 - 1.135)	0.341	1
12	rs12322500	ERC1	A	REC	974	1.554 (-2.597 - 5.705)	0.463	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	ADD	958	-0.491 (-2.044 - 1.060)	0.535	1
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	915	-0.545 (-2.272 - 1.180)	0.536	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	955	-0.674 (-3.198 - 1.850)	0.601	1
7	rs10486678	VPS41	A	REC	909	-2.155 (-11.050 - 6.741)	0.635	1
3	rs10510377	GRM7	C	REC	962	0.920 (-10.480 - 12.320)	0.874	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita

Tabla 74. Resultados de la asociación entre los diferentes polimorfismos y los valores de PAD en población hipertensa (sin covariables).

CHR	SNP	GENE	A1	TEST	NMISS	BETA (CI 95%)	P	BONF
7	rs3108427	CCDC146	A	REC	976	11.180 (6.720 - 15.640)	<b>1.04E-06</b>	<b>1.98E-05</b>
7	rs3114317	CCDC146	T	REC	946	13.200 (7.794 - 18.610)	<b>1.97E-06</b>	<b>3.75E-05</b>
7	rs3114316	CCDC146	C	REC	976	11.750 (6.793 - 16.700)	<b>3.83E-06</b>	<b>7.27E-05</b>
12	rs12322500	ERC1	A	DOM	974	-1.988 (-3.582 - -0.392)	<b>0.015</b>	0.280
7	rs6972824	PTPRN2	A	ADD	973	-1.837 (-3.460 - -0.214)	<b>0.027</b>	0.507
9	rs2820950	KDM4C	T	DOM	976	-1.029 (-2.614 - 0.555)	0.204	1
16	rs8061801	CDH13	A	ADD	915	-0.823 (-2.164 - 0.517)	0.229	1
3	rs10510377	GRM7	C	DOM	962	1.058 (-0.910 - 3.026)	0.292	1
9	rs1323467	NR4A3/SEC61B	C	ADD	974	-0.787 (-2.387 - 0.811)	0.335	1
18	rs9950398	APCDD1/VAPA	T	DOM	957	0.835 (-0.871 - 2.543)	0.338	1
3	rs9875077	KALRN	G	REC	973	2.177 (-2.336 - 6.690)	0.345	1
4	rs4577579	lincRNA	G	REC	943	-1.220 (-4.060 - 1.619)	0.400	1
4	rs1993425	SFRP2/DCHS2	A	REC	955	0.824 (-1.113 - 2.761)	0.405	1
7	rs10486678	VPS41	A	ADD	909	0.675 (-1.00 - 2.352)	0.430	1
8	rs374413	ZNF703/KCNU1	C	REC	956	-2.323 (-8.243 - 3.596)	0.442	1
7	rs13232567	NPY/STK31	T	REC	888	1.139 (-3.283 - 5.561)	0.614	1
21	rs2252898	KRTAP15-1	T	REC	958	0.558 (-1.756 - 2.872)	0.636	1
6	rs2259208	DSP	C	REC	922	-0.547 (-2.995 - 1.900)	0.661	1
10	rs877819	WDFY4	G	DOM	895	0.305 (-1.477 - 2.087)	0.737	1

CHR: cromosoma; GENE: nombre del gen; A1: alelo minoritario; TEST: test de herencia (ADD: aditivo, DOM: dominante, REC: recesivo); NMISS: pacientes sin datos perdidos; P: p.valor sin ajustar, BONF: p.valor ajustado por el test de Bonferroni, p.valor < 0.05 en negrita