

Polimorfismos associados ao risco cardiovascular em indivíduos em hemodiálise: uma revisão sistemática

Polymorphism related to cardiovascular risk in hemodialysis subjects: a systematic review

Autores

Karla Pereira Balbino¹
Helen Hermana Miranda
Hermsdorff¹
Josefina Bressan¹

¹ Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Nutrição e Saúde,
Viçosa, MG, Brasil.

RESUMO

A doença cardiovascular (DCV) é uma das principais causas de mortalidade de indivíduos em hemodiálise (HD). Além dos fatores de risco tradicionais, que são frequentes nesses indivíduos, também estão envolvidos fatores genéticos, com destaque para os polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês, single nucleotide polymorphism, SNP). O presente trabalho tem como objetivo revisar sistematicamente os estudos que investigaram os polimorfismos associados ao risco cardiovascular nessa população. De modo geral, os SNPs presentes em indivíduos em HD são aqueles de genes relacionados à inflamação, estresse oxidativo e calcificação vascular, também capazes de interferir no risco cardiovascular dos pacientes. Polimorfismos em genes relacionados a fatores de risco reconhecidos para DCV, como dislipidemia, hipertensão arterial e hipertrofia ventricular esquerda, também influenciam a morbidade e mortalidade cardiovascular.

Palavras-chave: Insuficiência Renal Crônica; Inflamação; Estresse Oxidativo; Calcificação Vascular; Hipertrofia Ventricular Esquerda; Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

ABSTRACT

Cardiovascular disease (CVD) is one of the leading causes of mortality in hemodialysis (HD) subjects. In addition to the traditional risk factors that are common in these individuals, genetic factors are also involved, with emphasis on single nucleotide polymorphisms (SNPs). In this context, the present study aims to systematically review the studies that investigated the polymorphisms associated with cardiovascular risk in this population. In general, the SNPs present in HD individuals are those of genes related to inflammation, oxidative stress and vascular calcification, also able of interfering in the cardiovascular risk of this population. In addition, polymorphisms in genes related to recognized risk factors for CVD, such as dyslipidemia, arterial hypertension and left ventricular hypertrophy, also influence cardiovascular morbidity and mortality.

Keywords: Chronic Renal Failure; Inflammation; Oxidative Stress; Vascular Calcification; Hypertrophy, Left Ventricular; Polymorphism Single Nucleotide.

INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é definida como uma lesão do parênquima renal e/ou diminuição da taxa de filtração glomerular (menor que 60 ml/min/1,73m²), presentes por um período igual ou superior a três meses, com implicações para a saúde.¹ Essa enfermidade apresenta altas taxas de incidência e prevalência e tem se configurado um problema de saúde mundial, com elevados custos para a saúde pública, de aproximadamente 1,4 bilhão de reais/ano no Brasil.²

No Brasil, estudos epidemiológicos vêm registrando aumento gradativo do número de portadores de DRC, com elevada taxa de prevalência de tratamento dialítico, o qual atendeu 112.004 pacientes no ano de 2014. Destes, 91% estavam em hemodiálise (HD).³

Apesar das melhorias na tecnologia de diálise, a taxa de mortalidade de pacientes em HD é muito alta, cuja principal causa é a doença cardiovascular (DCV). Embora fatores de risco tradicionais, como hipertensão, diabetes *mellitus*, dislipidemia, idade e tabagismo, sejam comuns

Data de submissão: 10/07/2017.
Data de aprovação: 23/08/2017.

Correspondência para:
Josefina Bressan.
E-mail: jbrm@ufv.br

DOI: 10.1590/2175-8239-JBN-3857



nesses indivíduos, explicam somente em parte a alta prevalência de DCV. Assim como em outras doenças multifatoriais, sugere-se que fatores genéticos estejam envolvidos na sua patogênese.⁴

Dentro desse contexto, diversos polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphism*, SNP), caracterizados pela variação de um único par de bases na sequência de DNA, têm sido identificados em indivíduos em HD.⁵ Alguns SNPs levam à substituição de aminoácidos na proteína e outros provocam a produção de códons de parada, interrompendo prematuramente o processo de tradução da proteína, ambos capazes de interferir em sua função biológica.⁶ Dessa forma, alguns estudos demonstram a influência desses SNPs no risco cardiovascular em indivíduos em HD.⁷⁻⁹

A presente revisão tem como objetivo revisar sistematicamente os estudos que investigaram os polimorfismos associados ao risco cardiovascular em indivíduos em HD.

METODOLOGIA

Essa revisão sistemática foi conduzida de acordo com um protocolo específico e é descrita conforme os itens de relatórios preferenciais para revisão sistemática e declaração de meta-análises.¹⁰ Este artigo baseia-se em estudos anteriores e não envolve estudos realizados por nenhum dos autores.

ESTRATÉGIA DE BUSCA

Uma revisão da literatura foi conduzida nas bases de dados informatizadas MEDLINE (PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Science Direct, usando as palavras-chave “hemodialysis”, “end-stage renal disease”, “renal replacement therapy”, “ESRD”, combinadas com “polymorphism” OU “polymorphisms”. A pesquisa foi limitada aos artigos publicados entre 2010 e 2017.

CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

Foram incluídos estudos clínicos com adultos e idosos em tratamento de HD. Os artigos que não foram publicados na íntegra ou aqueles apresentados como tutoriais, editoriais, notícias, cartas ou comentários, revisões narrativas e sistemáticas, meta-análises, estudos de caso, ensaios experimentais, estudos originais com temas diferentes do interesse e repetições foram excluídos. Também foram excluídos os estudos sobre

doença renal aguda, DRC em tratamento conservador ou em tratamento com diálise peritoneal, transplante e síndrome nefrótica.

RESULTADOS DA PESQUISA

Os estudos identificados nas bases de dados eletrônicas foram reunidos em um único banco de dados para excluir duplicatas. Após a exclusão de todas as duplicações, dois revisores independentes selecionaram as referências em três fases: análise de títulos, resumos e textos completos.

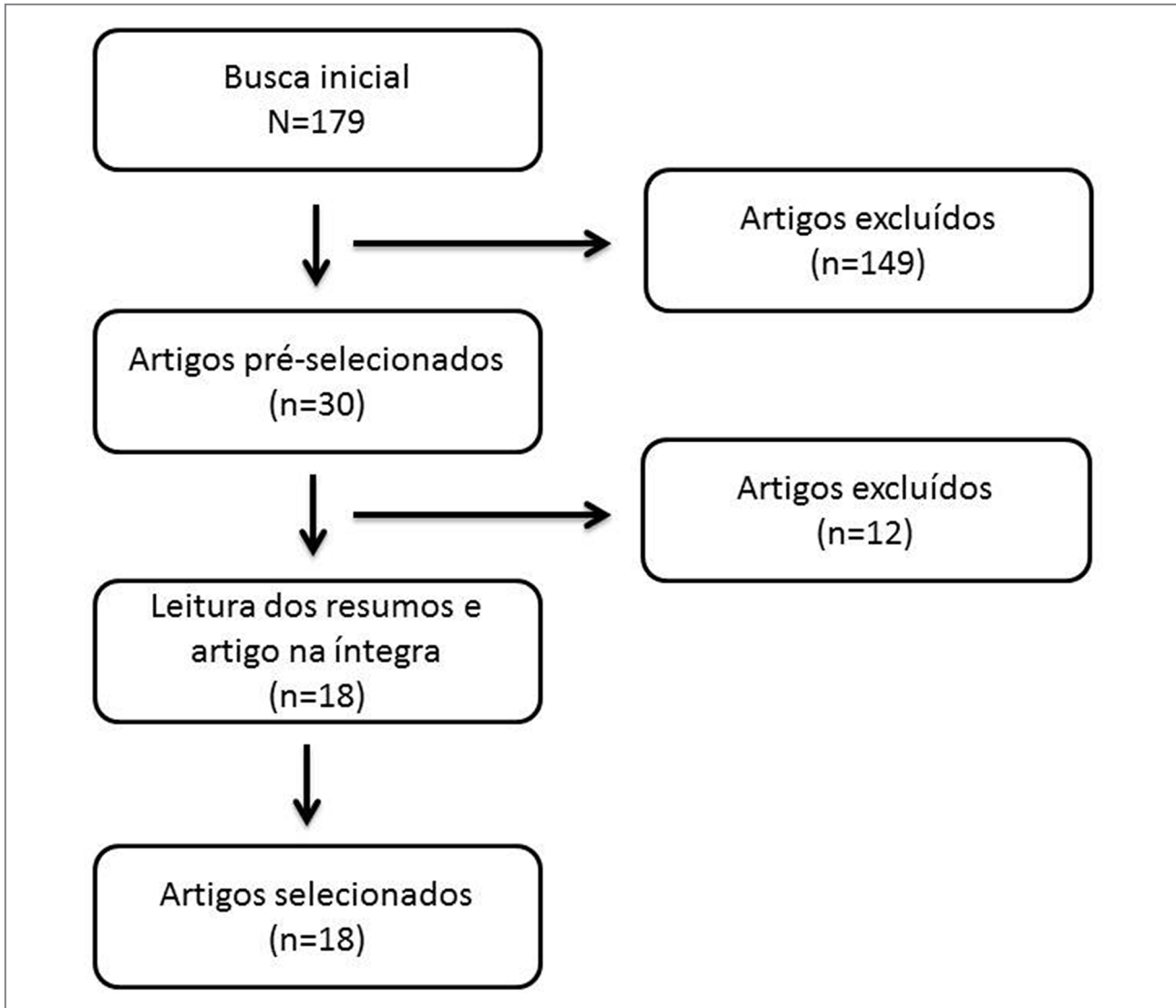
Durante o processo de seleção inicial foram encontrados 179 artigos, dos quais 149 foram excluídos após leitura do título, de acordo com os critérios de seleção. Em seguida, os resumos foram lidos para verificar a conformidade com os critérios de inclusão e posteriormente para confirmar a elegibilidade do artigo. Foram excluídos 12 estudos. Finalmente, foram selecionados 18 artigos para análise e discussão de resultados (Figura 1). Outros artigos foram utilizados para contextualização e discussão dos estudos apresentados.

DISCUSSÃO

A partir da análise dos estudos incluídos nesta revisão é possível constatar que diferentes genes têm sido investigados quanto ao risco cardiovascular em indivíduos em HD. A maioria deles está relacionada ao estado inflamatório e estresse oxidativo (EO) (Tabela 1) e calcificação vascular (CV) (Tabela 2). Contudo, também têm sido avaliados genes relacionados à hipertrofia ventricular esquerda, dislipidemia e hipertensão (Tabela 3).

A seleção de tais genes deve-se ao fato de que a presença da inflamação crônica e EO desempenham papel patogênico importante no desenvolvimento de DCV em indivíduos em HD.¹¹ Os genes avaliados em relação ao estado inflamatório e EO foram fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-10 (IL-10), IL-6, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), receptor transmembrana para produtos finais de glicação avançada (RAGE), NADPH oxidase, uridina difosfato-glucuronosiltransferase (UGT1A1), E-selectina e heme oxigenase 1 (HO1) (Tabela 1).

O TNF é uma das citocinas pró-inflamatórias mais relevantes no desenvolvimento, progressão e complicação da aterosclerose, por meio da redução da expressão da óxido nítrico sintase endotelial, levando à disfunção endotelial. O TNF é positivamente

Figura 1. Fluxograma das etapas seguidas para a obtenção dos artigos selecionados para a presente revisão sistemática.

regulado na doença renal progressiva.¹² O seu gene está localizado no cromossomo 6, sendo altamente polimórfico na região promotora. A maioria dos SNPs apresenta a substituição G/A, e o mais investigado é o da posição -308. Na população geral, o polimorfismo -308 G/A está associado à produção elevada de TNF em homozigotos AA.¹³

A IL-10 tem sido considerada uma das mais importantes citocinas anti-inflamatórias e antiaterogênicas. Como é eliminada principalmente pelos rins, sua meia-vida é aumentada nos indivíduos em HD, levando a concentrações plasmáticas aumentadas.¹⁴ Além disso, por causa da ativação crônica de monócitos, pacientes urêmicos produzem quantidades maiores de IL-10 comparados a indivíduos saudáveis.¹⁵ O gene da IL-10 está localizado no cromossomo 1, e as sequências polimórficas foram descritas na região

promotora nas posições -592 C/A, -818 C/T e -1082 G/A. O alelo -1082 G parece ser o mais importante, uma vez que portadores do genótipo G/G produzem 30% mais da citocina, enquanto que a baixa produção pelo genótipo A/A está associada ao aumento da mortalidade cardiovascular em indivíduos em HD.¹⁶

A IL-6 é uma citocina multifuncional envolvida em vários processos contraditórios, uma vez que tem efeitos pró e anti-inflamatórios e pode promover a aterosclerose e perda muscular. Diferentes haplótipos no gene da IL-6 podem determinar os níveis de sua transcrição. O gene IL-6 está localizado no cromossomo 7p21 e tem vários polimorfismos nas regiões promotoras (-174 G/C, -634 C/G, -572 G/C e -597 G/A)¹⁷ associados ao aumento do risco de DCV.

Nesse contexto, Song *et al.*⁸ observaram que os genótipos IL-6-634GG e IL-6-174CC foram associados

TABELA 1 POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À INFLAMAÇÃO, ESTRESSE OXIDATIVO E RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS EM HEMODIÁLISE

Gene	Molécula	SNP	Metodologia	Resultado	Referência
<i>SELE</i>	E Selectina, molécula de adesão	rs5355C > T	Estudo transversal. 40 indivíduos (mediana de idade: 45 anos; 50% mulheres) e 30 controles (mediana de idade: 36,5 anos; 63,3% mulheres). Determinação de SNP por PCR-RFLP	Não houve diferença ao comparar a espessura da camada íntima-média direita e esquerda e a área de seção transversal direita e esquerda entre os genótipos CC, CT e TT do SNP <i>SELE</i> rs5355C > T.	Isaac <i>et al.</i> , 2014 ⁴⁰
<i>HMOX1</i>	Heme oxigenase 1	As frequências alélicas do comprimento de repetições do dinucleotídeo guanosina timidina (o alelo S representa repetições mais curtas (< 27) e o alelo L representa repetições mais longas (≥ 27).	Estudo de coorte. 1080 indivíduos (51,1% homens; idade: 59 anos) e 365 controles (52,1% homens; idade: 57 anos). Determinação de SNP por PCR	Genótipo L/L apresentou maior mortalidade por DCV e por todas as causas.	Chen <i>et al.</i> , 2013 ⁴⁵
<i>ICAM-1</i>	Molécula de adesão intercelular-1	K469E; Genótipos: TT, TC e CC.	Estudo transversal. 1016 indivíduos caucasianos (656 com DCV: idade 62,8 ± 15, 59,9% homens e 360 sem DCV: idade 56,8 ± 14,3, 51,9% homens); 824 controles (idade: 52,1 ± 14; 55,2% homens). Determinação de SNP por PCR + técnica de oligonucleotídeo específica de alelo.	Ao estratificar os pacientes de acordo com as características clínicas de DCV, houve tendência para frequências mais altas do alelo T e genótipo TT em pacientes com infarto do miocárdio; Ser portador do alelo T foi um fator de risco independente de susceptibilidade para DCV.	Buraczynska <i>et al.</i> , 2012 ²⁰
<i>IL-6</i>	Interleucina-6	-634C/G, -174G/C e -572C/G.	Estudo transversal. 216 indivíduos com DAC (idade: 58,6 ± 10,6 anos; 61,1% homens). Determinação de SNP por PCR RFLP.	Associação positiva dos genótipos -634GG e -174CC e risco de eventos cardiovasculares; Não houve associação entre o SNP -572C/G e o risco de eventos cardiovasculares.	Song <i>et al.</i> , 2015 ⁸
<i>IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral</i>	Interleucina-6 e 10 e fator de necrose tumoral	TNF:-308 G/A (rs1800629); <i>IL-6</i> : -174 G/A (rs1800795); <i>IL-10</i> : -1082 G/A (rs1800896)	Estudo transversal. 169 indivíduos caucasianos (idade: 62 ± 11 anos; 62,1% homens). Determinação de SNP por PCR.	Heterozigotos para o gene <i>IL-10</i> apresentaram menor incidência de eventos cardiovasculares; Pacientes com alelo A (gene <i>TNF</i>) apresentaram maior risco de eventos cardiovasculares. Presença do alelo G (gene <i>IL-6</i>) apresentou efeito protetor sobre eventos cardiovasculares.	Tosic Dragovic <i>et al.</i> , 2016 ¹⁷

CONTINUAÇÃO TABELA 1.

NOX	NADP oxidase	C242T	Estudo transversal. 289 indivíduos chineses: 192 sem DCV (grupo N; idade: 53,3 ± 12,6; 51,6% homens) e 97 com DCV (grupo D; idade 54,4 ± 11,5 anos; 51,4% homens). Determinação de SNP por PCR RFLP.	Frequência do genótipo CT + TT foi significativamente menor no grupo D do que no grupo N.	Tang <i>et al.</i> , 2010 ²⁹
RAGE	Receptor de produtos finais de glicação avançada	-374 T/A	Estudo caso-controle. 1866 indivíduos caucasianos (idade: 61,6 ± 17,2; 57,0% homens) e 1143 indivíduos saudáveis (idade: 54 ± 19,1; 55,2% homens); 63 indivíduos com AVC isquêmico (idade: 66,3 ± 14,5 anos; 52,1% mulheres). Determinação de SNP por PCR.	Indivíduos com AVC apresentaram menor frequência do alelo A do que pacientes sem DCV.	Buraczynska <i>et al.</i> , 2015 ²⁵
UGT1A1	Uridina difosfa- to-glucuronosil- transferase	UGT1A1*28	Estudo de coorte. 661 indivíduos (50,7% homens; idade: 58 anos) e 152 controles (53,9% homens; idade: 59 anos). Determinação de SNP por PCR.	Indivíduos com o genótipo 7/7 apresentaram níveis de bilirrubina significativamente mais elevados do que aqueles com os genótipos 6/6 e 7/6; Indivíduos com o genótipo 7/7 tiveram, aproximadamente, 1/10 do risco para eventos cardiovasculares e 1/4 do risco para todas as causas de mortalidade, em comparação com os portadores do alelo 6.	Chen <i>et al.</i> , 2011 ³⁷

AVC: acidente vascular cerebral; DAC: doença arterial coronariana; DCV: doença cardiovascular; HD: hemodiálise; HMOX1: heme oxigenase 1; ICAM-1: molécula de adesão intercelular-1; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; NOX: NADP oxidase; PCR: reação em cadeia da polimerase; PCR-RFLP: reação em cadeia de polimerase - polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição; RAGE: receptor de produtos finais de glicação avançada; SELE: E-selectina; SNP: single nucleotide polymorphism; UGT1A1: uridina difosfato-glucuronosiltransferase.

a maior risco de eventos cardiovasculares em indivíduos em HD. Já Tasic Dragovic *et al.*,¹⁷ além da IL-6, também avaliaram polimorfismos na IL-10 e TNF e concluíram que a morbidade cardiovascular poderia estar sob a influência de polimorfismos genéticos nessas citocinas.

Ainda, ICAM-1, uma glicoproteína de superfície celular, é um membro da superfamília de imunoglobulinas de moléculas de adesão, responsável pela adesão de leucócitos circulantes ao endotélio ativado, que é um dos primeiros eventos na patogênese

da aterosclerose. A ICAM-1 é expressa no endotélio vascular, células do músculo liso, macrófagos e linfócitos ativados. Sua expressão pode ser positivamente regulada por mediadores inflamatórios.¹⁸

O gene ICAM-1 está localizado no cromossomo 19p13 e consiste em sete éxons. O polimorfismo em que a citosina é substituída pela timina no sexto éxon desse gene resulta na substituição do aminoácido ácido glutâmico (E) à lisina (K) no domínio 5 de imunoglobulina da proteína ICAM-1 (K469E). Esse polimorfismo está envolvido em doenças inflamatórias e

TABELA 2 POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À CALCIFICAÇÃO VASCULAR E RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS EM HEMODIÁLISE

Gene	Molécula	SNP	Estudo/Amostra	Resultado	Referência
<i>ANRIL</i>	RNA não codificante antisentido	rs10757278, rs4977574, rs10757274 e rs6475606	Estudo de coorte. 284 indivíduos (idade: 56,0 ± 2,0; 59,9% mulheres). Determinação de SNP por PCR.	Indivíduos homocigotos para o alelo de risco (GG) do SNP rs10757278 mostraram duas vezes maior risco de evento cardiovascular adverso do que os portadores do alelo protetor (AA ou AG), mesmo após ajuste para outros fatores de risco, como diabetes <i>mellitus</i> .	Arbiol-Roca <i>et al.</i> , 2017 ⁸¹
<i>MTHFR</i>	Metileno-tetra-hidrofolato	C677T	Estudo transversal. 152 indivíduos (idade: 56,8 ± 13,8; 54,6% homens). Determinação de SNP por PCR.	Maior pontuação de CV nos indivíduos com genótipo TT do que nos indivíduos CC e CT; Maior prevalência de doença vascular periférica na presença do polimorfismo para todos os indivíduos; Maior incidência de AVC na presença do polimorfismo em indivíduos jovens (≤ 60 anos); Associação positiva dos genótipos CT e TT e CV.	Lee <i>et al.</i> , 2011 ⁷³
<i>Proteína Gla de matrix</i>	Proteína Gla de matrix	T-138C (rs1800802) e G-7A (rs1800801)	Estudo de coorte. 134 indivíduos. Determinação de SNP por PCR.	Velocidade de progressão da CV nos indivíduos com genótipo CC foi mais lenta do que nos indivíduos CT ou TT; Associação do genótipo CT/TT, idade avançada no início da HD, sexo masculino, concentrações elevadas de cálcio/fósforo e LDL-c, baixas concentrações de HDL-c e ferritina e ausência de utilização de bloqueadores de receptores da angiotensina II com a progressão da CV.	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2013 ⁶⁸
<i>VKORC1</i>	Vitamina K epóxido-redutase	C1173T e G-1639A	Estudo transversal. 54 indivíduos (idade: 40,1 ± 12,5 anos; 54% mulheres). Determinação de SNP por PCR.	Associação entre polimorfismo C1173T e CV; Alelo T foi associado a maiores chances de CV e DCV clinicamente evidente; Polimorfismo G-1639A não foi associado com CV e apresentou menor prevalência de DCV clinicamente evidente.	Osman <i>et al.</i> , 2016 ⁷

AVC: acidente vascular periférico; CV: calcificação vascular; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; VKOR: vitamina K epóxido-redutase; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; MTHFR: metileno-tetra-hidrofolato redutase; PCR: reação em cadeia da polimerase; SNP: single nucleotide polymorphism.

aterosclerose.¹⁹ Em indivíduos em HD, ser portador do alelo T desse polimorfismo foi considerado um fator de risco, independentemente de susceptibilidade para DCV.²⁰

RAGE é um membro da superfamília de imunoglobulinas, que reconhece uma vasta gama de ligantes

endógenos que se acumulam nos tecidos durante o envelhecimento, degeneração crônica e inflamação. A expressão de RAGE é baixa em condições normais, enquanto que, em condições patogênicas, como diabetes ou inflamação, está associada a aumento em sua expressão.²¹

TABELA 3 POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À CALCIFICAÇÃO VASCULAR E RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS EM HEMODIÁLISE

Gene	Molécula	SNP	Estudo/Amostra	Resultados	Referência
<i>CTGF2</i>	Fator de crescimento do tecido conjuntivo	G-945C	Estudo transversal. 99 indivíduos caucasianos (idade: 64 ± 13 anos, 64% homens). Determinação de SNP por PCR.	Associação positiva do genótipo GG com eventos cardiovasculares (AVC e IM) e mortalidade por DCV.	Cozzolino <i>et al.</i> , 2010 ⁷⁸
<i>ACE</i>	Enzima conversora de angiotensina	I/D	Estudo transversal. 196 indivíduos (56,6% homens; idade: 62,3 ± 11,4 anos). Determinação de SNP por PCR RFLP.	Maior incidência de hipertrofia ventricular esquerda e doença vascular periférica em indivíduos com alelo D; Associação entre a presença do polimorfismo e incidência de AVC e hiperlipoproteinemia.	Tošić <i>et al.</i> , 2014 ⁵⁸
<i>PPAR γ</i>	Receptores ativados por proliferador de peroxissoma	Pro12Ala e C161T	Estudo transversal. 99 indivíduos chineses (idade: 60,2 ± 11,9 anos; 53,5% homens) e 149 controles (idade: 51,7 ± 15,9 anos; 56,4% homens).	PC e EIMC nos indivíduos com os genótipos CT + TT ou Pro12Ala foram menores do que nos indivíduos CC ou Pro12Pro; EIMC do subgrupo Pro12Ala-CT161 foi inferior ao subgrupo Pro12Pro-CC161 e Pro12Pro-CT161; PC do subgrupo Pro12Ala-CT161 foi menor do que o subgrupo Pro12Pro-CC161.	Liu <i>et al.</i> , 2014 ⁹
<i>VDR</i>	Receptor de vitamina D	BsmI	Estudo transversal. 182 indivíduos caucasianos (57,1% homens); 175 indivíduos saudáveis. Determinação de SNP por PCR.	Associação direta entre o número de alelos B e IMVE, independentemente de tratamento com anti-hipertensivo e calcitriol; Número de alelos B foi positivamente associado às alterações no IMVE.	Testa <i>et al.</i> , 2010 ⁷⁵
<i>VDR</i>	Receptor de vitamina D	BsmI	Estudo transversal. 80 indivíduos (66,3% homens; idade: 57,3 ± 10,6 anos); 40 controles saudáveis (65% homens; idade: 56,5 ± 11,2 anos). Determinação de SNP por PCR RFLP.	Indivíduos com genótipo BB apresentaram menores concentrações séricas de 25-hidroxi vitamina D em comparação com os genótipos Bb e bb; Número de alelos B foi positivamente correlacionado com o IMVE, mas não com espessura da íntima-média.	EI-Shehaby <i>et al.</i> , 2013 ⁷⁶

CONTINUAÇÃO TABELA 3.

<i>SIRT 1</i>	Sirtuína 1	rs7895833, rs7069102 e rs2273773	Estudo transversal. 219 indivíduos japoneses (54,3% homens; idade: 60,4 ± 13,3 anos); 803 indivíduos controles (65,1% mulheres; idade: 61,3 ± 10,3 anos). Determinação de SNP por PCR.	Concentrações séricas de CT e LDLc foram maiores nos portadores do alelo G (rs7069102) em comparação com o genótipo CC no sexo masculino; Escores de calcificação da artéria coronariana foram maiores nos portadores do alelo C (rs2273773) em todos os indivíduos e no sexo masculino.	Shimoyama <i>et al.</i> , 2012 ⁵¹
---------------	------------	--	---	--	---

ACE: enzima conversora de angiotensina; AVC: acidente vascular cerebral; CT: colesterol total; CTGF2: fator de crescimento do tecido conjuntivo; EIMC: espessura da íntima-média da carótida; HD: hemodiálise; IM: infarto do miocárdio; IMVE: índice de massa ventricular esquerda; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; PC: placa da carótida; PCR: reação em cadeia da polimerase; PCR-RFLP: reação em cadeia de polimerase – polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição; PPAR: Receptores ativados por proliferador de peroxissoma; SIRT 1: sirtuína 1; SNP: single nucleotide polymorphism; VDR: receptor de vitamina D.

O gene que codifica RAGE está localizado no cromossomo 6p21.3, no complexo principal de histocompatibilidade (MHC), e compreende 11 éxons. De todos os polimorfismos identificados nesse gene, a variante -374 T/A foi associada à DCV.²² Diversos estudos revelaram forte ligação entre o genótipo -374A ou AA e proteção contra doença vascular.^{23,24} Esses resultados foram também confirmados em indivíduos caucasianos em HD, nos quais a presença do alelo A desse polimorfismo apresentou efeito protetor contra acidente vascular encefálico.²⁵

NADH/NADPH oxidase é uma enzima associada à membrana que produz superóxido em células musculares lisas vasculares e endoteliais,²⁶ sendo a fonte mais importante de espécies reativas de oxigênio em artérias intactas.²⁷ O polimorfismo C242T CYBA nessa enzima está associado à produção aumentada de superóxido em vasos sanguíneos de indivíduos com DCV.²⁸ De fato, em indivíduos em HD, os genótipos CT+TT foram considerados fator de proteção independente para DCV, indicando que a presença desse polimorfismo é um fator significativo no desenvolvimento de DCV.²⁹

A bilirrubina possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias e acredita-se que seus efeitos antioxidantes e anti-aterogênicos são decorrentes da capacidade de inibir a oxidação de LDL (lipoproteína de baixa densidade) e outros lipídios,³⁰ eliminar radicais livres³¹ e neutralizar o EO.³² Estudos têm demonstrado associação inversa entre as concentrações séricas de bilirrubina e doença coronariana e vascular periférica e acidente vascular cerebral.^{33,34}

As concentrações séricas de bilirrubina são controladas pela enzima UGT1A1, que contribui para a

glucorinidação da bilirrubina e, conseqüentemente, é a principal determinante da sua eliminação em seres humanos. Uma causa comum de diminuição na atividade da UGT1A1 é a inserção de um TA na caixa TATAA, na região promotora do gene UGT1A1, designado por UGT1A1*28.³⁵

Indivíduos homocigotos para 7 repetições (7/7) têm concentrações mais elevadas de bilirrubina sérica do que os heterocigotos (7/6) ou aqueles com o tipo selvagem de 6 repetições (6/6).^{35,36} Nos pacientes em HD, o polimorfismo UGT1A1*28 apresentou forte efeito sobre os níveis de bilirrubina e o genótipo 7/7 parece ter efeito importante na redução de eventos cardiovasculares e morte.³⁷

Porém, esses estudos relacionados a polimorfismos nesses genes foram realizados com pequeno tamanho amostral. Dessa forma, sugere-se a replicação dessas associações encontradas em outras coortes de pacientes, possivelmente por estratégias diferentes, para validar os resultados e esclarecer o papel desses genes na DCV no contexto de um ambiente urêmico.

A E-selectina, uma glicoproteína de superfície celular de 11 kDa, é uma molécula de adesão da família das selectinas, que recruta leucócitos circulantes por meio de interações adesivas e participa da sinalização e rolamento celular, o que por sua vez leva a uma adesão firme.³⁸ A E-selectina não é detectada em células endoteliais inativas, e sim sintetizada rapidamente em resposta a certas citocinas e outros estímulos pró-inflamatórios, tornando-a um marcador do fenótipo endotelial “ativado”.³⁹

Issac *et al.*⁴⁰ avaliaram a diferença nas concentrações de proteína-A plasmática associada à gravidez (PAPP-A) entre os genótipos rs5355C > T no gene da

E-selectina e também investigaram a possível associação entre PAPP-A sérica e esse polimorfismo com a pressão arterial e perfil lipídico em indivíduos em HD. Não houve associação direta entre o polimorfismo, concentração sérica de PAPP-A e espessura da camada média da íntima. Os autores sugerem que essa associação com a aterosclerose da carótida pode refletir em um mecanismo indireto tanto do polimorfismo quanto dos níveis séricos de PAPP-A com fatores de risco cardiovasculares, pressão arterial e HDL-c (lipoproteína de alta densidade), em vez de um efeito direto sobre a vasculatura.⁴⁰

A PAPP-A é produzida, principalmente, pelo sincitiotrofoblasto durante a gestação, mas também por fibroblastos, osteoblastos e células do músculo liso endotelial e vascular, tanto em homens como em mulheres. Sugere-se que concentrações séricas elevadas de PAPP-A podem ser um marcador do grau de ecogenicidade das lesões ateroscleróticas nas carótidas.⁴¹

A *HMOX1* é uma enzima citoprotetora que potencialmente exerce funções antioxidantes, anti-inflamatórias, antiapoptóticas e angiogênicas por meio de seus produtos reativos.⁴² O gene *HMOX1* foi mapeado no cromossomo 22q12,⁴³ e o número de repetições de dinucleotídeo de guanosinatimidina [(GT)_n] na região promotora desse gene está inversamente associado aos níveis de RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) de *HMOX1* e à atividade da enzima transcrita.⁴⁴ De fato, indivíduos em HD com comprimentos mais longos (GT)_n nesse gene apresentaram maior inflamação e EO, e correm maior risco de eventos cardiovasculares em longo prazo, bem como estão mais suscetíveis à mortalidade.⁴⁵

A dislipidemia é um importante fator de risco para o desenvolvimento das lesões ateroscleróticas.⁴⁶ Dessa forma, os genes avaliados quanto à presença de polimorfismos que poderiam influenciar o surgimento de DCV foram a sirtuína 1 (SIRT1) e o receptor ativado por proliferador de peroxissoma γ (PPAR γ , do inglês peroxisome proliferator-activated receptor γ) (Tabela 2).

A SIRT1 atua na sinalização endócrina, especificamente no metabolismo de glicose e gordura,^{47,48} por meio da ativação de proteínas α e β no receptor X do fígado, que regulam o metabolismo lipídico.⁴⁹ No tecido adiposo, a SIRT1 interage com PPAR γ inibindo a atividade transcricional, e consequentemente a adipogênese.⁴⁷ Assim, a SIRT1 está associada ao metabolismo lipídico, e polimorfismos no seu gene

podem afetar o perfil lipídico. Essa associação foi verificada em indivíduos japoneses em HD, nos quais a presença dos polimorfismos rs7069102 e rs2273773 foi associada ao metabolismo anormal de colesterol e à calcificação das artérias coronárias, respectivamente, especialmente em homens.⁵⁰

Por sua vez, o PPAR γ é um receptor nuclear de hormônios que regula genes alvo, responsáveis pelo metabolismo de lipídeos e glicose, inflamação, proliferação e necrose de células tumorais, esclerose de órgãos e fibrose.⁵¹ Pelo fato de atuar sobre a regulação do metabolismo lipídico e inflamação, ele pode afetar os processos ateroscleróticos.⁵²

Inúmeras variações genéticas do gene que codifica PPAR γ influenciam seu papel regulador na transcrição gênica.⁹ Os SNPs mais comuns são Pro12Ala e C161T. O polimorfismo Pro12Ala é caracterizado por uma substituição CG no éxon B, resultando na conversão de prolina em alanina no resíduo 12 da proteína. O outro é a substituição CT na posição do nucleotídeo 161 no éxon 6 (C161T).⁵³ Estudos anteriores mostraram que esses polimorfismos podem desempenhar um papel importante na aterosclerose da artéria carótida em populações caracterizadas por dislipidemia, diabetes, obesidade e DCV.^{54,55} Porém, em indivíduos chineses em HD, esses dois polimorfismos foram associados a importantes fatores de risco para DCV, como aumento da proteína C-reativa e espessura das camadas íntima e média das carótidas, além de formação de placas ateromatosas nessas artérias, mas não ao metabolismo de lipídeos e nutrição.⁹

A presença da hipertensão arterial sistêmica leva ao aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais.⁵⁶ Nesse sentido, um estudo incluído nesta revisão investigou a influência de polimorfismos no gene da enzima conversora de angiotensina (ECA) sobre a morbidade cardiovascular em indivíduos em HD⁵⁷ (Tabela 2).

A ECA converte a angiotensina I inativa na sua forma ativa, a angiotensina II, um potente vasoconstritor e o principal produto do sistema renina-angiotensina.⁵⁸ O gene que codifica a ECA está localizado no braço longo do cromossomo 17 e compreende 26 éxons e 25 íntrons. Um polimorfismo encontrado nesse gene é o de inserção (I)/deleção (D), sendo que a deleção é considerada uma mutação. Existem três genótipos diferentes I/I, I/D e D/D, e cada um deles pode influenciar a atividade da ECA. Os níveis mais elevados de ECA plasmática são encontrados em

homozigotos DD. Os homozigotos com genótipo I/I apresentam os níveis mais baixos, e os heterozigotos I/D têm níveis plasmáticos intermediários dessa enzima.⁵⁹ Esse polimorfismo leva a uma maior predisposição ao desenvolvimento de DCV, como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e outros distúrbios ateroscleróticos.^{60,61} De fato, em indivíduos em HD, o polimorfismo do gene da ECA foi associado ao desenvolvimento de acidente vascular cerebral, sendo que o alelo D desse gene aumentou significativamente o risco de desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e doença vascular periférica. No entanto, os autores sugerem a necessidade de um acompanhamento mais longo para chegar a uma conclusão definitiva sobre a influência desse polimorfismo na morbidade cardiovascular e sua importância na prática clínica diária.⁵⁷

A CV é altamente prevalente entre pacientes com DRC, progredindo, muitas vezes, durante um período relativamente curto de tempo, e é um forte preditor de DCV e mortalidade por todas as causas nessa população.^{62,63} Sendo assim, dos estudos incluídos nesta revisão, três investigaram polimorfismos em genes que poderiam influenciar a CV e, conseqüentemente, o risco cardiovascular, sendo eles: proteína Gla de matriz (*MGP*), vitamina K epóxido redutase (*VKORC*) e 5,10 metilenotetrahidrofolato (*MTHFR*) (Tabela 3).

A *MGP* é uma proteína dependente de vitamina K, com 84 aminoácidos e peso molecular de 12 kDa.⁶⁴ Sugere-se que esse seria um fator crítico no desenvolvimento da aterosclerose em indivíduos em HD.⁶⁵ O gene que codifica a *MGP* tem vários SNP nas suas regiões promotora e codificante.⁶⁶ Em destaque, o genótipo *MGP*-138CC do polimorfismo T-138C no gene dessa proteína pode estar associado a uma progressão mais lenta da CV em pacientes em HD. Dessa forma, os autores propõem que o genótipo do gene *MGP* pode ser um biomarcador genômico preditivo da progressão de CV. Além disso, esse biomarcador inalterável pode ser útil na detecção e classificação de doenças, predição de resposta ao tratamento, eficácia do tratamento e prognóstico.⁶⁷

Ainda dentro desse contexto da CV, Osman, El-Abd e Nasrallah⁷ investigaram a associação de polimorfismos no gene da *VKORC1* com DCV em indivíduos em HD, pela presença de DCV clinicamente evidente e/ou CV. Os autores verificaram que polimorfismos nesse gene tinham associação com calcificação cardiovascular prevalente e DCV clinicamente

evidente, sendo que pacientes com o polimorfismo C1173T apresentaram maior risco de doenças e os com G-1639A, menor risco. Porém, esses resultados precisam ser confirmados em estudos envolvendo a mensuração de concentrações de vitamina K carboxilada, *MGP* e fatores de coagulação para uma melhor interpretação.⁷

De fato, a *VKOR* é responsável pela reciclagem da vitamina K, cuja necessidade no organismo humano é muito baixa. A inativação dessa enzima aumenta os requerimentos da vitamina a valores acima do presente na dieta, resultando em sua insuficiência funcional.⁶⁸ *VKORC1* é o gene que codifica a *VKOR*, e polimorfismos nesse gene foram associados à disponibilidade de vitamina K ativa para a carboxilação de fatores de coagulação, particularmente resistência à cumarina.⁶⁹ Concentrações aumentadas de fatores de coagulação associados a esses polimorfismos podem estar relacionadas a eventos vasculares como consequência da hipercoagulabilidade.⁷⁰

A 5,10 *MTHFR* é uma das principais enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína, que apresenta propriedades aterogênicas nos vasos sanguíneos. Mutações no gene da *MTHFR* poderiam reduzir sua atividade enzimática e causar hiperhomocisteinemia, que é um fator de risco para a aterosclerose devido à disfunção endotelial e EO.⁷¹ Em indivíduos em HD, houve forte relação entre a presença do polimorfismo C677T no gene *MTHFR* e CV, já que, comparados ao genótipo CC, os pacientes com genótipos CT e TT apresentaram *odds ratios* ajustadas para CV de 1,39 e 1,58, respectivamente ($p < 0,005$).⁷²

A hipertrofia ventricular esquerda é um dos mais importantes fatores de risco de mortalidade por todas as causas e cardiovascular em indivíduos em HD.⁷³ Dois estudos incluídos nesta revisão investigaram o efeito de polimorfismos no gene do receptor da vitamina D sobre a hipertrofia ventricular esquerda e, conseqüentemente, no risco cardiovascular nessa população^{74,75} (Tabela 2).

A deficiência de vitamina D é comum nesses pacientes, podendo ter conseqüências significativas em sua saúde.⁷⁶ O miocárdio é um alvo importante da vitamina D, e três polimorfismos comuns (*BsmI*, *Apal* e *TaqI*) no extremo 3' no receptor da vitamina D têm sido intensamente investigados. Nesse sentido, Testa *et al.*⁷⁴ e El-Shehaby *et al.*⁷⁵ observaram que, em pacientes em diálise, o alelo B do polimorfismo *BsmI* no gene do receptor da vitamina D foi independentemente

relacionado à hipertrofia ventricular esquerda e está associado a uma maior taxa da sua progressão. Além disso, o alelo B desse polimorfismo pode ser considerado um novo marcador de alteração da sinalização da vitamina D nesses pacientes.

Ademais, um estudo incluído na presente revisão investigou a influência de polimorfismo no gene do fator de crescimento do tecido conjuntivo (CCN2) na morbidade e mortalidade cardiovascular em indivíduos em HD⁷⁷ (Tabela 2). A CCN2, uma citocina profibrótica secretada por células endoteliais humanas, está envolvida na aterogênese, uma vez que o seu RNAm é expresso em células musculares lisas de vasos sanguíneos ateroscleróticos, mas não em artérias homólogas normais.⁷⁸

Além disso, a expressão da proteína CCN2 é significativamente maior em placas ateroscleróticas em comparação com placas fibrosas e mais estáveis, e pode aumentar a migração de monócitos em lesões ateroscleróticas, contribuindo assim para a aterogênese.⁷⁹ Em indivíduos caucasianos em HD, o polimorfismo no gene CCN2 foi considerado um fator de risco prognóstico para morbidade e mortalidade cardiovascular. Os autores deste estudo sugerem que esses resultados podem ter implicações importantes para uma melhor compreensão da ligação entre a aterosclerose acelerada e aumento da mortalidade nessa população.⁷⁷

Por fim, indivíduos homocigotos para o alelo de risco (GG) do SNP rs10757278 no ANRIL (RNA não codificante antisentido) mostraram duas vezes maior risco de evento cardiovascular adverso do que os portadores do alelo protetor (AA ou AG), mesmo após ajuste para outros fatores de risco, como diabetes *mellitus*.⁸⁰ ANRIL está localizado no cromossomo 9p21.3 e é considerado o fator genético mais fortemente associado à DCV aterosclerótica.⁸¹ A expressão aumentada desse gene acelera a proliferação, aumenta a adesão e diminui a apoptose,⁸¹ mecanismo relacionado com a patogênese da aterosclerose.

CONCLUSÃO

De modo geral, os resultados dos estudos incluídos nesta revisão sugerem que polimorfismos em genes relacionados à inflamação e EO e CV afetam o risco cardiovascular em indivíduos em HD. Além disso, polimorfismos em genes considerados fatores de risco para DCV, como dislipidemia, hipertensão arterial e

hipertrofia ventricular esquerda, também influenciam a morbidade e mortalidade cardiovascular nessa população.

LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Os estudos incluídos nesta revisão apresentaram como limitações o uso de pequeno tamanho amostral e grupos étnicos específicos, não sendo possível a extrapolação dos resultados para pacientes em HD em geral. A maioria dos estudos é do tipo transversal, impossibilitando verificar a relação causa-efeito da presença de alelo específico. Além disso, os estudos analisam, de modo geral, polimorfismos em um único gene, sendo que a análise de haplótipos em alguns casos é mais interessante, ou seja, a análise em conjunto de polimorfismos em genes próximos ao analisado que poderiam influenciar o risco de desenvolver a doença. Finalmente, deve-se considerar que a influência apenas do polimorfismo no risco de desenvolver a doença é pequena, uma vez que fatores ambientais, estilo de vida e, no caso de indivíduos em HD, a presença de outras comorbidades (como doença renal, diabetes *mellitus*, hipertensão, dentre outros) podem interagir com o polimorfismo influenciando na determinação do fenótipo.

Apesar das limitações anteriormente citadas, sabe-se que avaliar a presença desses polimorfismos é de extrema importância, uma vez que a identificação de pacientes portadores de genótipos de alto risco pode permitir estratégias preventivas precoces e propiciar acompanhamento mais próximo das populações-alvo apropriadas. Além disso, é fundamental reconhecer um biomarcador preditivo para morbidade e mortalidade e permitir melhor identificação dos grupos de alto risco. Por fim, a nutrigenética, ciência que estuda o efeito da variação genética entre os indivíduos na resposta à dieta, é um aspecto importante a ser considerado, uma vez que, no contexto de uma recomendação personalizada, o conhecimento dessa interação gene-nutriente indica quais indivíduos poderiam ser beneficiados com a adoção de uma dieta específica. Aponta também que outros fatores ambientais podem interferir na relação gene-nutriente.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPEMIG, pela bolsa de doutorado concedida a KP Balbino. HHM Hermsdorff e J Bressan são bolsistas de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

REFERÊNCIAS

- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013;3:1-150.
- Gonçalves FA, Dalosso IF, Borba JMC, Bucaneve J, Valerio NMP, Okamoto CT, *et al.* Qualidade de vida de pacientes renais crônicos em hemodiálise ou diálise peritoneal: estudo comparativo em um serviço de referência de Curitiba - PR. *J Bras Nefrol* 2015;37:467-74.
- Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Martins CT. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2014. *J Bras Nefrol* 2016;38:54-61.
- Ishimitsu T, Tsukada K, Ohta S, Inada H, Minami J, Ono H, *et al.* Increased cardiovascular risk in long-term hemodialysis patients carrying deletion allele of ACE gene polymorphism. *Am J Kidney Dis* 2004;44:466-75.
- Nordfors L, Lindholm B, Stenvinkel P. End stage renal disease—not an equal opportunity disease: the role of genetic polymorphism. *J Intern Med* 2005;258:1-12.
- Zhao Z, Fu YX, Hewett-Emmett D, Boerwinkle E. Investigating single nucleotide polymorphism (SNP) density in the human genome and its implications for molecular evolution. *Gene* 2003;312:207-13.
- Osman NA, El-Abd N, Nasrallah M. *VKORC1* gene (vitamin k epoxide reductase) polymorphisms are associated with cardiovascular disease in chronic kidney disease patients on hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2016;27:908-15.
- Song Y, Gu HD, He Y, Wang JW. Role of *IL-6* polymorphism on the development of cardiovascular events and coronary artery disease in patients receiving hemodialysis. *Genet Mol Res* 2015;14:2631-7.
- Liu F, Mei X, Zhang Y, Qi H, Wang J, Wang Y, *et al.* Association of peroxisome proliferator-activated receptor gene Pro12Ala and C161T polymorphisms with cardiovascular risk factors in maintenance hemodialysis patients. *Mol Biol Rep* 2014;41:7555-65.
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Ann Intern Med* 2009;151:264-9.
- Ishii H, Takahashi H, Ito Y, Aoyama T, Kamoi D, Sakakibara T, *et al.* The Association of Ankle Brachial Index, Protein-Energy Wasting, and Inflammation Status with Cardiovascular Mortality in Patients on Chronic Hemodialysis. *Nutrients* 2017;9:pii:416.
- Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, *et al.* Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55:1899-911.
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:3195-9.
- Morita Y, Yamamura M, Kashihara N, Makino H. Increased production of interleukin-10 and inflammatory cytokines in blood monocytes of hemodialysis patients. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;98:19-33.
- Brunet P, Capo C, Dellacasagrande J, Thirion X, Mege JL, Berland Y. IL-10 synthesis and secretion by peripheral blood mononuclear cells in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 1998;13:1745-51.
- Girndt M, Sester U, Sester M, Deman E, Ulrich C, Kaul H, *et al.* The interleukin-10 promoter genotype determines clinical immune function in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001;60:2385-91.
- Tosic Dragovic J, Popovic J, Djuric P, Jankovic A, Bulatovic A, Barovic M, *et al.* Relative risk for cardiovascular morbidity in hemodialysis patients regarding gene polymorphism for IL-10, IL-6 and TNF. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016;94:1106-9.
- Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003;170:191-203.
- Mohamed AA, Rashed L, Amin H, Abu-Farha M, El Fadi SA, Pakhoum S. K469E polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene in Egyptians with coronary heart disease. *Ann Saudi Med* 2010;30:432-6.
- Buraczynska M, Zaluska W, Baranowicz-Gaszczyk I, Buraczynska K, Niemczyk E, Ksiazek A. The intercellular adhesion molecule-1 (*ICAM-1*) gene polymorphism K469E in end-stage renal disease patients with cardiovascular disease. *Hum Immunol* 2012;73:824-8.
- Barlovic DP, Soro-Paavonen A, Jandeleit-Dahm KA. RAGE biology, atherosclerosis and diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2011;121:43-55.
- Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes* 2001;50:1505-11.
- Picheth G, Constantini CO, Pedrosa FO, Leme da Rocha Martinez T, Maltempi de Souza E. The -374A allele of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene promoter is a protective factor against cardiovascular lesions in type 2 *diabetes mellitus* patients. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1268-72.
- Boiocchi C, Bozzini S, Buzzi MP, Schirinzi S, Zorzetto M, Pelissero G, *et al.* Age of onset of myocardial infarction: is promoter polymorphism of the RAGE gene implicated? *Rejuvenation Res* 2011;14:67-73.
- Buraczynska M, Zaluska W, Buraczynska K, Markowska-Gosik D, Ksiazek A. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene polymorphism and cardiovascular disease in end-stage renal disease patients. *Hum Immunol* 2015;76:843-8.
- Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, Ishizaka N, Griendling KK. p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1996;271:23317-21.
- Sorescu D, Weiss D, Lassègue B, Clempus RE, Szöcs K, Sorescu GP, *et al.* Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1429-35.
- Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:135-7.
- Tang FY, Zhu Y, Wang GH, Xie XW. Relation between development of cardiovascular disease and the C242T *CYBA* polymorphism of the NADPH oxidase in ESRD patients. *Dis Markers* 2010;29:89-93.
- Wu TW, Fung KP, Wu J, Yang CC, Weisel RD. Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins. *Biochem Pharmacol* 1996;51:859-62.
- Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh A, Glazer A, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 1987;235:1043-6.
- Vítek L, Jirsa M, Brodanová M, Kalab M, Marecek Z, Danzig V, *et al.* Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis* 2002;160:449-56.
- Perlstein TS, Pande R, Beckman JA, Creager MA. Serum total bilirubin level and prevalent lower-extremity peripheral arterial disease: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999 to 2004. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 2008;28:166-72.
- Kimm H, Yun JE, Jo J, Jee SH. Low serum bilirubin level as an independent predictor of stroke incidence: a prospective study in Korean men and women. *Stroke* 2009;40:3422-7.
- Bosma PL, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, *et al.* The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1995;333:1171-5.

36. Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: A balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:8170-4.
37. Chen YW, Hung SC, Tarng DC. Serum bilirubin links UGT1A1*28 polymorphism and predicts long-term cardiovascular events and mortality in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:567-74.
38. Roldán V, Marin F, Lip GY, Blann AD. Soluble E-selectin in cardiovascular disease and its risk factors. A review of the literature. *Thromb Haemost* 2003;90:1007-20.
39. Khazen D, Jendoubi-Ayed S, Aleya WB, Sfar I, Mouelhi L, Matri S, *et al.* Polymorphism in ICAM-1, PECAM-1, E-selectin, and L-selectin genes in Tunisian patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:167-75.
40. Issac MSM, Afif A, Gohar NA, Fayek NA, Zayed B, Sedrak H, *et al.* Association of E-selectin gene polymorphism and serum PAPP-A with carotid atherosclerosis in end-stage renal disease. *Mol Diagn Ther* 2014;18:243-52.
41. Beaudeau JL, Burc L, Imbert-Bismut F, Giral P, Bernard M, Bruckert E, *et al.* Serum plasma pregnancy-associated protein A: a potential marker of echogenic carotid atherosclerotic plaques in asymptomatic hyperlipidemic subjects at high cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:e7-10.
42. Idriss NK, Blann AD, Lip GY. Hemoxigenase-1 in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:971-8.
43. Kutty RK, Kutty G, Rodriguez IR, Chader GJ, Wiggert B. Chromosomal localization of the human heme oxygenase genes: heme oxygenase-1 (HMOX1) maps to chromosome 22q12 and heme oxygenase-2 (HMOX2) maps to chromosome 16p13.3. *Genomics* 1994;20:513-6.
44. Exner M, Schillinger M, Minar E, Mlekusch W, Schlerka G, Haumer M, *et al.* Heme oxygenase-1 gene promoter microsatellite polymorphism is associated with restenosis after percutaneous transluminal angioplasty. *J Endovasc Ther* 2001;8:433-40.
45. Chen YH, Hung SC, Tarng DC. Length polymorphism in heme oxygenase-1 and cardiovascular events and mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:1756-63.
46. Vance DE, Vance JE, eds. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 5th ed. Amsterdam: Elsevier; 2008. 631 p.
47. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, *et al.* Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* 2004;429:771-6.
48. Rodgers JT, Lerin C, Haas W, Gygi SP, Spiegelman BM, Puigserver P. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature* 2005;434:113-8.
49. Li X, Zhang S, Blander G, Tse JG, Krieger M, Guarente L. SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR. *Mol Cell* 2007;28:91-106.
50. Shimoyama Y, Mitsuda Y, Tsuruta Y, Suzuki K, Hamajima N, Niwa T. SIRTUIN 1 gene polymorphisms are associated with cholesterol metabolism and coronary artery calcification in Japanese hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2012;22:114-9.
51. Kliewer SA, Willson TM. The nuclear receptor PPARgamma - bigger than fat. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:576-81.
52. Dumasia R, Eagle KA, Kline-Rogers E, May N, Cho L, Mukherjee D. Role of PPAR- gamma agonist thiazolidinediones in treatment of pre-diabetic and diabetic individuals: a cardiovascular perspective. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005;5:377-86.
53. Chao TH, Li YH, Chen JH, Wu HL, Shi GY, Liu PY, *et al.* The 161TT genotype in the exon 6 of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene is associated with premature acute myocardial infarction and increased lipid peroxidation in habitual heavy smokers. *Clin Sci (Lond)* 2004;107:461-6.
54. Wan J, Xiong S, Chao S, Xiao J, Ma Y, Wang J, *et al.* PPARc gene C161T substitution alters lipid profile in Chinese patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol* 2010;9:13.
55. Ereqat S, Nasereddin A, Azmi K, Abdeen Z, Amin R. Impact of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-Gamma 2 gene on metabolic and clinical characteristics in the Palestinian type 2 diabetic patients. *PPAR Res* 2009;2009:874126.
56. Chobanian A, Bakris L, Black R, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, *et al.*; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *JAMA* 2003;289:2560-72.
57. Tošić JS, Đurić Z, Popović J, Buzadžić I, Dimković S, Dimković N. Polymorphism of angiotensin converting enzyme in hemodialysis patients--association with cardiovascular morbidity. *Med Pregl* 2014;67:297-304.
58. Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Circ Res* 2006;98:1123-33.
59. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:484-92.
60. Keavney B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, *et al.* Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. *Lancet* 2000;355:434-42.
61. Mallamaci F, Zuccalà A, Zoccali C, Testa A, Gaggi R, Spoto B, *et al.* The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme is associated with nephroangiosclerosis. *Am J Hypertens* 2000;13:433-7.
62. NasrAllah MM, Nassef A, Elshaboni TH, Morise F, Osman NA, Sharaf El Din UA. Comparing different calcification scores to detect outcomes in chronic kidney disease patients with vascular calcification. *Int J Cardiol* 2016;220:884-9.
63. London GM, Guérin AP, Marchais SJ, Métivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1731-40.
64. Covic A, Kanbay M, Voroneanu L, Turgut F, Serban DN, Serban IL, *et al.* Vascular calcification in chronic kidney disease. *Clin Sci (Lond)* 2010;119:111-21.
65. Moe SM, Chen NX. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. *Circ Res* 2004;95:560-7.
66. Farzaneh-Far A, Davies JD, Braam LA, Spronk HM, Proudfoot D, Chan SW, *et al.* A polymorphism of the human matrix gamma-carboxylglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein-1 complex and is associated with altered transcription and serum levels. *J Biol Chem* 2001;276:32466-73.
67. Yoshikawa K, Abe H, Tominaga T, Nakamura M, Kishi S, Matsuura M, *et al.* Polymorphism in the human matrix Gla protein gene is associated with the progression of vascular calcification in maintenance hemodialysis patients. *Clin Exp Nephrol* 2013;17:882-9.
68. Theuwissen E, Smit E, Vermeer C. The role of vitamin K in soft-tissue calcification. *Adv Nutr* 2012;3:166-73.
69. Müller E, Keller A, Fregin A, Müller CR, Rost S. Confirmation of warfarin resistance of naturally occurring VKORC1 variants by coexpression with coagulation factor IX and in silico protein modelling. *BMC Genet* 2014;15:17.
70. Leung A, Huang CK, Muto R, Liu Y, Pan Q. CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism analysis might be necessary in patients with Factor V Leiden and pro-thrombin gene G2021A mutation(s). *Diagn Mol Pathol* 2007;16:184-6.

71. Spark JI, Laws P, Fitridge R. The incidence of hyperhomocysteinaemia in vascular patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;26:558-61.
72. Lee SY, Kim HY, Park KM, Lee SY, Hong SG, Kim HJ, *et al.* *MTHFR C677T* polymorphism as a risk factor for vascular calcification in chronic hemodialysis patients. *J Korean Med Sci* 2011;26:461-5.
73. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Giacone G, Cataliotti A, *et al.*; CREED Investigators. Prognostic impact of the indexation of left ventricular mass in patients undergoing dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2768-74.
74. Testa A, Mallamaci F, Benedetto FA, Pisano A, Tripepi G, Malatino L, *et al.* Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism is associated with left ventricular (LV) mass and predicts left ventricular hypertrophy (LVH) progression in end-stage renal disease (ESRD) patients. *J Bone Min Res* 2010;25:313-9.
75. El-Shehaby AM, El-Khatib MM, Marzouk S, Battah AA. Relationship of *BsmI* polymorphism of vitamin D receptor gene with left ventricular hypertrophy and atherosclerosis in hemodialysis patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2013;73:75-81.
76. Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy M, Tamez H, *et al.* Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007;72:1004-13.
77. Cozzolino M, Biondi ML, Banfi E, Riser BL, Mehmeti F, Cusi D, *et al.* *CCN2* (CTGF) gene polymorphism is a novel prognostic risk factor for cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Blood Purif* 2010;30:272-6.
78. Oemar BS, Lüscher TF. Connective tissue growth factor. Friend or foe? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1483-9.
79. Cicha I, Yilmaz A, Klein M, Raithel D, Brigstock DR, Daniel WG, *et al.* Connective tissue growth factor is overexpressed in complicated atherosclerotic plaques and induces mononuclear cell chemotaxis in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1008-13.
80. Arbiol-Roca A, Padró-Miquel A, Hueso M, Navarro E, Alía-Ramos P, González-Álvarez MT, *et al.* Association of ANRIL gene polymorphisms with major adverse cardiovascular events in hemodialysis patients. *Clin Chim Acta* 2017;466:61-7.
81. Holdt LM, Teupser D. From genotype to phenotype in human atherosclerosis—recent findings. *Curr Opin Lipidol* 2013;24:410-8.