

Associação do polimorfismo do gene *CHGA* em pacientes com acidente vascular encefálico hemorrágico e/ou aneurisma

Association of the CHGA gene polymorphism in patients with hemorrhagic stroke and/or aneurysm

Joanilson C. M. Santos Jr.¹; Caroline F. Fratelli¹; Alan Cristian F. Nóbrega¹; Suzana Cristina Rodrigues¹; Ligia Canongia A. C. Duarte¹; Calliandra Maria S. Silva¹; Jonathan D. Lima¹; Luzitano B. Ferreira²; Daniel O. Freire³; Vivian Taís F. Cipriano³; Izabel Cristina R. Silva¹; Hélia Carla Souza²

1. Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília, Distrito Federal, Brasil. 2. Centro Universitário de Brasília (UnICEUB), Brasília, Distrito Federal, Brasil.

3. Faculdade Ls, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

RESUMO

Introdução: Doenças cerebrovasculares têm sido ligadas a diversos genes. A cromogranina A (*CHGA*) é utilizada como um marcador em doenças cardiovasculares. Portanto, avaliar o polimorfismo e verificar a associação com essa patologia é muito importante para melhor compreensão dessa doença. **Objetivo:** O foco do estudo foi identificar a associação entre o polimorfismo na região codante posição -264 do gene *CHGA* (*Glu264Asp*) e o acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH)/aneurisma no Distrito Federal, Brasil. **Métodos:** Estudo caso-controle de base populacional, envolvendo 45 casos com AVEH e/ou aneurisma. Para a genotipagem dessas amostras, utilizou-se a técnica laboratorial reação em cadeia da polimerase-polimorfismo de comprimento de fragmento de limitação (PCR-RFLP). Nível de significância de 5% foi adotado. **Resultados:** A ausência do genótipo CC do polimorfismo *Glu264Asp* *CHGA* nos participantes do estudo e a presença significativa do genótipo heterozigoto GC foram verificadas. No entanto, a distribuição dos genótipos não diferiu estatisticamente nos grupos. **Conclusão:** O polimorfismo *Glu264Asp* *CHGA* parece não contribuir para a gênese da expressão da proteína *CHGA* nesse grupo de pacientes, mas revela se existe ou não uma possível associação da patologia em questão e se a mutação contribuirá para a terapia gênica e melhorará a qualidade de vida dos pacientes.

Unitermos: polimorfismo genético; cromogranina A; acidente vascular cerebral.

ABSTRACT

Introduction: Cerebrovascular diseases have been associated with several genes. Chromogranin A (*CHGA*) has been used as maker in cardiovascular disease. Therefore, evaluating the polymorphism and verifying its association with this pathology is very important to better understand this disease. **Objective:** The aim of this study was to identify the association between coding region polymorphism in -264 position of the *CHGA* gene (*Glu264Asp*) and hemorrhagic stroke (HS)/aneurysm in the Federal District, Brazil. **Methods:** This is a population-based case-control, involving 45 cases with HS and/or aneurysm. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method is used for genotyping these samples. A significance level of 5% was adopted. **Results:** The absence of the CC genotype the *Glu264Asp* *CHGA* polymorphism in the study participants and the significant presence of the GC heterozygote genotype were observed in this study. However, the distribution of genotypes did not differ statistically in the groups. **Conclusion:** The *Glu264Asp* *CHGA* polymorphism does not seem to contribute to the genesis of the *CHGA* protein expression in this patients group, but to understand whether or not there is a possible association of the pathology in question and whether the mutation will contribute in the gene therapy and thus to improve patients' quality of life.

Key words: genetic polymorphism; chromogranin A; hemorrhagic stroke.

RESUMEN

Introducción: Enfermedades cerebrovasculares han sido vinculadas a diversos genes. La cromogranina A (CgA) es utilizada como un marcador en enfermedades cardiovasculares. Por consiguiente, evaluar el polimorfismo y verificar la asociación con esa patología es muy importante para la mejor comprensión de la enfermedad. **Objetivo:** El enfoque del ensayo fue identificar la asociación entre el polimorfismo en la región codificante en la posición -264 del gen *CHGA* (Glu264Asp) y el accidente cerebrovascular hemorrágico (ACVH)/aneurisma en Distrito Federal, Brasil. **Métodos:** Estudio de caso-control de base poblacional, involucrando 45 casos con ACVH y/o aneurisma. Para el genotipaje de las muestras, se utilizó la técnica de laboratorio reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP). Nivel de significación elegido: 5%. **Resultados:** Ausencia del genotipo CC del polimorfismo Glu264Asp *CHGA* en los participantes del ensayo y presencia significativa del genotipo heterocigoto GC. Sin embargo, la distribución de los genotipos no difirió estadísticamente en los grupos. **Conclusión:** El polimorfismo Glu264Asp *CHGA* parece no contribuir para la génesis de la expresión de la proteína CgA en este grupo de pacientes, pero revelar si existe o no una posible asociación de la patología en cuestión y si la mutación contribuirá para la terapia genética y mejorará la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: polimorfismo genético; cromogranina A; accidente cerebrovascular.

INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE), também conhecido como acidente vascular cerebral (AVC), consiste em uma disfunção neurológica aguda, de origem vascular, seguida de ocorrência súbita de sinais e sintomas relacionados com o comprometimento de áreas focais no encéfalo, onde os sintomas persistem acima de 24 horas de duração⁽¹⁾. Segundo a Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares (2016), essa patologia é a que mais ocasiona morte em brasileiros: a cada ano, 17 milhões de indivíduos têm um AVC no mundo; 6,5 milhões morrem; e 26 milhões ficam incapacitantes permanentemente⁽²⁾.

O aneurisma intracerebral pode ser definido como uma dilatação anormal em um ponto da parede das artérias do polígono arterial de Willis. Nos Estados Unidos, 27 mil novos casos de hemorragia subaracnoidea ocorrem a partir da ruptura de aneurisma, e 5% a 15% se desenvolvem para AVE hemorrágico (AVEH)^(3,4).

De modo geral, o AVE tem como principal característica a falta de aporte sanguíneo em uma determinada região cerebral, que pode ser ocasionada pela ruptura ou obstrução arterial. Divide-se em duas categorias: isquêmico e hemorrágico, que apresentam semelhanças, mas se diferem quanto a fisiologia, etiologia e tratamentos⁽⁵⁾.

O acidente vascular encefálico isquêmico (AVEI) caracteriza-se pela interrupção do fluxo sanguíneo em determinada região cerebral. Geralmente, essa interrupção ocorre pela presença de um trombo, ou seja, um processo de coagulação sanguínea inadequado, na artéria ou na veia, com agregados bacterianos e células inflamatórias⁽⁶⁾. O AVEH é resultado de uma fragilidade vascular que pode levar à ruptura de um vaso e conseqüentemente ao extravasamento

sanguíneo em regiões do cérebro⁽⁷⁾; possui a hipertensão arterial sistêmica (HAS) como principal patologia associada⁽⁸⁾.

Atualmente, o diagnóstico dessa patologia é dado com base no histórico clínico do paciente e com o auxílio da tomografia computadorizada (TC). Os sintomas podem variar e estão relacionados com diferentes áreas do cérebro. É comum que haja alteração neurológica que interfiram na fala, na visão, na cognição, na sensibilidade, no equilíbrio e nos movimentos⁽⁹⁾. Assim como as diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) encontradas comumente na população mundial, o AVE é uma doença multifatorial que se relaciona com uma série de fatores que influenciam o seu desenvolvimento: os ambientais e os genéticos^(10,11). Portanto, identificar as causas, com a ajuda de algumas tecnologias da área da saúde, é importante para compreender determinada patologia e conseguir proporcionar melhor qualidade de vida ao paciente, pois essa doença exige certa dependência física. Esse tipo de dependência gera alterações sociais, emocionais e econômicas, além de isolamento, ocasionando transtornos neuropsiquiátricos^(12,13).

A cromogranina A (CHGA) é uma glicoproteína de secreção ácida localizada no cromossomo 14q32.12. Essa glicoproteína tem sido utilizada como biomarcador de tumores em tecidos neuroendócrinos, além de doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas, hipertensão, doenças cardiovasculares e insuficiência renal e hepática⁽¹⁴⁾. Avaliar o polimorfismo de qualquer gene é um grande desafio, ainda mais em relação ao gene *CHGA*, pois são poucos os estudos que relacionam a sua mutação a uma patologia. Entre as diversas regiões desse gene, a troca de base G/A na *CHGA-264* tem demonstrado ser um fator de diminuição da expressão dessa proteína.

Com base no que foi exposto, os objetivos deste estudo são verificar a frequência do polimorfismo da *CHGA-264* G/A em uma amostra populacional brasileira de indivíduos portadores de AVEH e/ou aneurisma intracerebral, bem como investigar uma possível associação entre o polimorfismo G/A da *CHGA*, na região codante, com diferentes manifestações clínicas e analisar essa associação no prognóstico dos pacientes em relação à patologia estudada.

MÉTODOS

Composição

O estudo composto por 97 pacientes foi conduzido na Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília (UnB), Brasil. As amostras que compõem este estudo caso-controle foram obtidas no Hospital de Base entre janeiro de 2011 e dezembro de 2012. No total, 45 indivíduos diagnosticados com AVEH e/ou aneurisma intracerebral (32 mulheres e 13 homens; idade média 52 ± 1 ano) foram recrutados para este estudo. Todos os pacientes apresentavam os sinais clínicos descritos na definição da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre AVE; esses sinais também foram confirmados por imagem [TC ou ressonância magnética (RM)].

O grupo-controle foi composto por 52 indivíduos (31 mulheres e 21 homens; idade média 51 ± 1 ano) considerados saudáveis; eles foram pareados por idade e sexo. Todos eram voluntários e acompanhavam os pacientes no ambulatório geral. A amostra foi calculada estimando uma prevalência de 2% de AVEH/aneurisma na população adulta; erro de amostragem de 5%; e intervalo de confiança (IC) de 95%, nos 112 pacientes avaliados segundo os critérios descritos anteriormente. No total, 24 participantes foram incluídos. Consideramos a amostra de 45 pacientes com AVEH a fim de compensar qualquer perda.

O termo de consentimento foi obtido de todos os participantes, antes da coleta das informações. O estudo foi aprovado por um comitê de ética institucional. Participantes menores de 18 anos, sem o diagnóstico de AVEH e/ou aneurisma, ou aqueles que possuíam algum tipo de parentesco com o grupo-controle foram excluídos.

Características clínicas

O histórico detalhado e a evolução clínica foram acompanhados. Pacientes foram questionados se tinham hipertensão (pressão arterial foi mensurada) ou diabetes, se eram tabagistas e se faziam uso de álcool. Escalas foram usadas para mensurar severidade, estágios da doença e incapacidade dos pacientes: Rankin Scale (RS) para verificar capacidade motora; Barthel index (BI) para mobilidade e cuidado pessoal; e Glasgow Scale para nível de consciência do paciente. Além disso, exames bioquímicos, como

glicose, creatinina e plaquetas, foram obtidos por meio da ficha clínica do paciente.

Métodos laboratoriais

Cada indivíduo deste estudo, caso e controle, forneceu amostra de 5 ml de sangue venoso. O ácido desoxirribonucleico (DNA) foi extraído do sangue coletado utilizando o *Invisorb Spin Blood Mini Kit* (250) da Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300). A genotipagem do polimorfismo da *CHGA-264* G/A foi realizada usando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) combinada com a análise de restrição do fragmento estudado no polimorfismo. Os *primers* utilizados na amplificação da *CHGA-264* G/A foram senso 5'-AGGGTGGCAGGCAAAGAG-3' e antissenso 5'-AAGGTGGAATGAGGTTATGG-3'. A amplificação foi realizada com base nas seguintes condições de termociclagem: 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, acompanhada de 56°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto para o anelamento dos *primers*. Por último, fez-se o processo de extensão a 72°C por 7 minutos. Os produtos da PCR de 235 pb foram incubados por 90 minutos a 37°C com a enzima DPN1. O alelo G não sofreu clivagem pela enzima, tendo assim um fragmento de 235 pb. O alelo A apresentou dois fragmentos de DNA, um de 106 pb e outro de 129 pb. Os fragmentos foram visualizados em gel de agarose a 3% com brometo de etídio e expostos à luz ultravioleta.

Análise estatística

A frequência dos genótipos e alelos em pacientes com AVEH e/ou aneurisma foi comparada com o grupo-controle usando o teste Qui-Quadrado nos modelos recessivo e dominante. O teste Armitage foi feito para verificar se há efeito da dosagem no alelo de risco para AVEH/aneurisma. A associação com as características clínicas e cada genótipo foi analisada por meio do Qui-Quadrado, adotando um nível de significância de 5%. Para análise de diferença das médias dos exames laboratoriais nos diferentes genótipos, foi realizado um teste *t* de Student, uma vez que as pressuposições de normalidade foram observadas.

RESULTADOS

Na **Tabela 1**, as frequências genotípicas foram descritas. A ausência do genótipo CC nos dois grupos foi observada, mas uma alta prevalência de indivíduos heterozigotos (GC) na amostragem foi verificada. Com isso, observou-se que não existiu associação significativa entre a patologia aqui estudada com a mutação *Glu264Asp* *CHGA*. Quanto a associação entre a presença do alelo polimórfico e o AVEH, também não foi verificada nenhuma relação ($p > 0,05$).

TABELA 1 – Distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo *Glu264Asp CHGA* nos diferentes grupos

<i>Glu264Asp CHGA</i>	Grupo				<i>p</i>	OR	IC
	AVEH/aneurisma		Controle				
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
GG	10	22,2	9	17,3			
GC	35	77,8	43	82,7	0,543	1,37	0,5-3,73
CC	0	0	0	0			
Total	45	100	52	100			
G	55	61,1	61	58,7			
C	35	38,9	43	41,3	0,729	1,11	0,62-1,97
Total	90	100	104	100			

CHGA: cromogranina A; *AVEH*: acidente vascular encefálico hemorrágico; *OR*: odds ratio; *IC*: intervalo de confiança.

As **Tabelas 2 e 3** descrevem as associações entre as características clínicas laboratoriais e o prognóstico dos pacientes com o polimorfismo estudado. Nenhuma associação da mutação com as variáveis estudadas foi verificada ($p > 0,05$).

TABELA 2 – Associação entre o polimorfismo *Glu264Asp CHGA* e as características clínicas/hábitos e o prognóstico do paciente medido nas escalas

Características clínicas		<i>Glu264Asp CHGA</i>				
		GG		GC		<i>p</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
HAS	Sim	8	22,9	27	77,1	0,848
	Não	2	20	8	80	
Diabetes	Sim	0	0	3	100	0,338
	Não	10	23,8	32	76,2	
Tabagismo	Sim	3	20	12	80	0,8
	Não	7	23,3	23	76,7	
Etilismo	Sim	1	14,3	6	85,7	0,583
	Não	9	23,7	29	76,3	
Glasgow	Coma intermediário	2	33,3	4	66,7	0,482
	Coma superficial	0	0	0	0	
Rankin	Normalidade	8	20,5	31	79,5	
	Assintomático	0	0	2	100	0,864
Índice de Barthel	Sintoma sem incapacidade	8	23,5	26	76,5	
	Incapacidade leve	0	0	1	100	
Independência funcional	Incapacidade moderada	0	0	2	100	
	Incapacidade moderada a grave	1	33,3	2	66,7	
Independência funcional	Incapacidade grave	1	33,3	2	66,7	
	Incapacidade severa	2	33,3	4	66,7	0,371
Independência funcional	Incapacidade moderada	0	0	0	0	
	Incapacidade leve	7	25,9	20	74,1	
Independência funcional	Independência funcional	1	8,3	11	91,7	

HAS: hipertensão arterial sistêmica.

TABELA 3 – Estatísticas-resumo de glicemia, creatinina e plaquetas conforme a presença do polimorfismo *Glu264Asp CHGA* nos pacientes do grupo-caso

Variáveis laboratoriais	<i>Glu264Asp CHGA</i>						
	GG		GC		Total		
	Média	Erro padrão da média	Média	Erro padrão da média	Média	Erro padrão da média	
Glicose	112	9	109	4	110	4	0,79
Creatinina	0,9	0,1	1,4	0,4	1,3	0,3	0,439
Plaquetas	321	17	339	12	335	10	0,455

CHGA: cromogranina A.

DISCUSSÃO

O AVE é uma patologia de grande impacto social que causa um déficit neurológico de origem vascular; acomete adultos e idosos. Essa doença é a primeira causa de mortalidade no Brasil e a segunda no mundo, logo após das doenças isquêmicas do coração^(15,16). Nesta pesquisa, a incidência de mulheres (71,1%) – idade de aproximadamente 52 anos – foi maior que a de homens (28,9%) no grupamento AVEH e/ou aneurisma.

Pesquisas genéticas que envolvem polimorfismos da *CHGA* associados a algumas doenças já foram descritas na literatura. Neste estudo, foi feita uma análise da associação entre a presença do polimorfismo *Glu264Asp CHGA* e os portadores do AVEH e/ou aneurisma que se encontravam em tratamento em uma unidade de saúde do Distrito Federal, Brasil.

Estudos de variação genética indicam que, do total de casos de AVE, cerca de 38% são hereditários. Também afirmam que a maior parte da contribuição genética para o AVE é poligênica e reflete efeitos de múltiplos genes, cada um exercendo pequenos efeitos⁽¹⁷⁾. Em relação ao AVEH, poucas revisões da literatura foram realizadas, quando comparadas com o desfecho isquêmico da doença.

A *CHGA* faz parte de um grupo de proteínas presentes em vários tecidos neuroendócrinos; tem sido considerada como marcador de diversas patologias, como hipertensão, doenças neuropsiquiátricas, insuficiência renal e hepática^(14, 18, 19). Além disso, essa proteína se destaca no grupo de marcadores na insuficiência cardíaca (IC), pois foi incluída como parte do mecanismo de disfunção neuroendócrina. A Classificação Braunwald de Biomarcadores para IC, dividida em sete categorias, aponta as cromograninas como biomarcadores para avaliação do prognóstico e do risco cardiovascular⁽²⁰⁾. Dessa forma, estudos sobre o polimorfismo genético da *CHGA* podem contribuir para a compreensão da patogênese e o prognóstico de doenças cardiovasculares, como o AVEH. No entanto, este trabalho não

apontou associação do polimorfismo da *CHGA-264* G/A com a ocorrência do AVEH e/ou aneurisma. Poucos estudos identificaram esse polimorfismo em um grupo de indivíduos. O estudo proposto por Salem *et al.* (2008)⁽²¹⁾ identificou que polimorfismos no gene *CHGA* estavam associados à presença da doença renal hipertensiva, porém, não observaram a relevância do polimorfismo *Glu264Asp* *CHGA* para a patogênese da doença⁽²¹⁾.

Outro estudo, desenvolvido por Kogawa *et al.* (2016)⁽²²⁾, constatou que o polimorfismo não estava associado à presença de diabetes, o mesmo observado neste trabalho, quando se desejou investigar essa associação entre os pacientes portadores de diabetes do grupo-caso com os do grupo-controle.

Quanto ao prognóstico, também não se verificou que o polimorfismo da *CHGA* estava associado ao perfil do paciente medido pelas escalas de avaliação neurológica. Pode-se perceber que o AVEH e/ou aneurisma é uma doença de amplo espectro na população. Porém, como limitação, o número da amostragem foi muito pequeno quando se pensa na magnitude da patologia em questão. Por essa razão, novas pesquisas em populações específicas devem ser feitas para ajudar na compreensão da doença associada à mutação genética, já que o Brasil é representado por um conjunto de indivíduos miscigenados.

Compreender os genes responsáveis pelas características normais ou patológicas permite a aplicação dos fundamentos da medicina genômica que irão modificar a terapia genética.

O princípio dessa tecnologia envolve a aplicação de genes responsáveis por proteínas que poderão ser benéficas ao indivíduo no paciente portador de doenças genéticas, ou seja, a aplicação de um gene normal poderá reverter o quadro clínico do portador. Esse procedimento poderia contribuir para a melhoria da qualidade de vida do paciente e possivelmente reduzir os índices de incidência, não somente dessa patologia, mas também de diversas outras⁽²³⁾.

CONCLUSÃO

O polimorfismo *Glu264Asp* *CHGA* parece não contribuir para a gênese da expressão da proteína CHGA neste grupo de pacientes, portanto, não é o embasamento ideal para compreender as razões dessa proteína ser um biomarcador do AVEH.

Entender as mutações genéticas dessa patologia contribui para o desenvolvimento da terapia gênica, uma tecnologia de grande importância para a saúde. Para tanto, novos estudos sempre devem ser feitos para melhorar a compreensão da doença e promover a qualidade de vida do paciente. Este estudo não demonstrou associação, mas verificar se existe uma possível associação em populações de diferentes países seria uma investigação interessante.

REFERÊNCIAS

1. De Carvalho MIF, de Sousa Delfino JA, Pereira WMG, Matias ACX, Santos EFS. Acidente vascular cerebral: dados clínicos e epidemiológicos de uma clínica de fisioterapia do sertão nordestino brasileiro. *Rev Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia.* 2015; 2(6).
2. Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares. Acidente vascular cerebral. Available at: http://www.sbdcv.org.br/publica_avc.asp. [Accessed on: 19 Oct 2018].
3. Magjistris F, Bazak S, Martin J. Intracerebral hemorrhage: pathophysiology, diagnosis and management. *MUMJ.* 2013; 10(1): 15-22.
4. Pinto MH, Zago MME. A compreensão do significado cultural do aneurisma cerebral e do tratamento atribuídos pelo paciente e familiares: um estudo etnográfico. *Rev Latino-Americana de Enfermagem.* 2000; 8(1): 51-6.
5. Montaner J, Mendioroz M, Delgado P, et al. Differentiating ischemic from hemorrhagic stroke using plasma biomarkers: the S100B/RAGE pathway. *J Proteomics.* 2012; 75(15): 4758-65.
6. Bath PM, Krishnan K. Interventions for deliberately altering blood pressure in acute stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; 10: CD000039.
7. Radanovic M. Características do atendimento de pacientes com acidente vascular cerebral em hospital secundário. *Arq Neuropsiquiatr.* 2000; 58(1): 99-106.
8. Vagal AS, Khatri P, Broderick JP, Tomsick TA, Yeatts SD, Eckman MH. Time to angiographic reperfusion in acute ischemic stroke: decision analysis. *Stroke.* 2014; 45(12): 3625-30.
9. Neto HS, Neville IS, Beer-Furlan A, Tavares WM, Teixeira MJ, Paiva WS. Hemodynamic stroke caused by strangulation. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7(9): 2932-5.
10. Baczkó I, Leprán I, Kiss L, Muntean DM, Light PE. Future perspectives in the pharmacological treatment of atrial fibrillation and ventricular arrhythmias in heart failure. *Curr Pharm Des.* 2015; 21(8): 1011-29.
11. Rolindo SJS, Oliveira LT. Acidente vascular cerebral isquêmico: revisão sistemática dos aspectos atuais do tratamento na fase aguda. *Rev Patol Tocantins.* 2016; 3(3): 18-26.
12. Marques FMLA, Martins RML. Independência funcional do doente pós AVC. Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior de Saúde de Viseu; 2012.
13. Silva IFGD, Neves CFDS, Vilela ACG, Bastos LMD, Henriques MILS. Viver e cuidar após o acidente vascular cerebral. *Rev Enfermagem Referência.* 2016; 8: 103-11.

14. Broedbaek K, Hilsted L. Chromogranin A as biomarker in diabetes. *Biomarkers Med.* 2016; 10(11): 1181-9.
15. Naki IK, Rodrigues TA, de Andrade TS, et al. Acidente vascular encefálico agudo: reabilitação. *Acta Fisiatr.* 2012; 19(2): 60-5.
16. Rodrigues ESR, Castro KAB, Rezende AAB, Herrera SDSC, Pereira AM, Takada JAP. Fatores de risco cardiovascular em pacientes com acidente vascular cerebral. *Rev Amazônia.* 2013; 1(2): 21-8.
17. Hopewell JC, Clarke R. Emerging risk factors for stroke what have we learned from mendelian randomization studies? *Stroke.* 2016; 47(6): 1673-8.
18. D'amico MA, Ghinassi B, Izzicupo P, Manzoli L, Di Baldassarre A. Biological function and clinical relevance of chromogranin A and derived peptides. *Endocr Connect.* 2014; 3(2): 45-54.
19. Kim T, Loh YP. Chromogranin A: a surprising link between granule biogenesis and hypertension. *J Clin Investigat.* 2005; 115(7): 1711-2.
20. Pitthan E, Martins OMO, Barbisan JN. Novos biomarcadores inflamatórios e de disfunção endotelial: predição de risco cardiovascular. *Rev AMRIGS.* 2014; 58(1): 69-77.
21. Salem A, Al Mokadem S, Attwa E, Abd El Raouf S, Ebrahim HM, Faheem KT. Nail changes in chronic renal failure patients under haemodialysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008; 22: 1326-31.
22. Kogawa EM, Grisi DC, Falcão DP, et al. Salivary function impairment in type 2 diabetes patients associated with concentration and genetic polymorphisms of chromogranin A. *Clin Oral Invest.* 2016.
23. Nardi NB, Teixeira LAK, da Silva EFA. Terapia gênica. *Ciência Saúde Coletiva.* 2002; 7(1): 109-16.

AUTOR CORRESPONDENTE

Izabel Cristina Rodrigues da Silva  0000-0002-6836-3583
e-mail: belbiomedica@gmail.com



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.