



Uema
CAMPUS CAXIAS



PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIODIVERSIDADE,
AMBIENTE E SAÚDE
CESC | UEMA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CAMPUS CAXIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE, AMBIENTE E
SAÚDE - PPGBAS

AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO E SUA
ASSOCIAÇÃO COM O POLIMORFISMO DO GENE NOS3 EM PACIENTES
RENAIS CRÔNICOS

CAXIAS
2023

NARUNA ARITANA COSTA MELO

**AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO E SUA
ASSOCIAÇÃO COM O POLIMORFISMO DO GENE NOS3 EM PACIENTES
RENAIS CRÔNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Claudene Barros - CESC/UEMA

Coorientador: Prof. Dr. Ewaldo Eder Carvalho Santana - UEMA

CAXIAS

2023

M528a Melo, Naruna Aritana Costa

Avaliação dos fatores de risco cardiometabólico e sua associação com o polimorfismo do gene Nos3 em pacientes renais crônicos / Naruna Aritana Costa Melo. __Caxias: Campus Caxias, 2023.

57f.

Orientador: Prof^a. Dra. Maria Claudene Barros.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Maranhão – Campus Caxias, Curso de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

1. Polimorfismo Glu298Asp. 2. Gene NOS3. 3. Risco cardiometabólico. 4. Doença renal crônica. I. Título.

CDU 616.61-002

NARUNA ARITANA COSTA MELO

**AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO E SUA
ASSOCIAÇÃO COM O POLIMORFISMO DO GENE NOS3 EM PACIENTES
RENAIS CRÔNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

Aprovada em _04_/_05_/_2023_

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Maria Claudene Barros (Orientadora)
Doutorado em Ciências Biológicas
Universidade Estadual do Maranhão
Campus Caxias

Dr^a Ilka Kassandra Pereira Belfort (Membro externo)
Doutora em Biotecnologia
Faculdade Laboro

Dr^a Joseneide Teixeira Câmara (Membro interno)
Doutorado em Medicina Tropical
Universidade Estadual do Maranhão
Campus Caxias

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde (PPGBAS), incluindo todo corpo docente e funcionários do campus Caxias.

À minha orientadora professora Maria Claudene Barros, por toda sua dedicação e paciência durante estes dois anos de aprendizado e pelo exemplo de competência e seriedade na área científica.

Ao meu coorientador professor Ewaldo Santana, agradeço por me aceitar como sua aluna, apoio e oportunidade de crescimento profissional.

Aos professores Allan Kardec Barros e Nilviane Pires pela oportunidade, ensinamentos, paciência e inestimável auxílio para a realização deste trabalho. Meus agradecimentos sinceros e profunda admiração.

Aos companheiros dos laboratórios GENBIMOL, LAPS e PIB pela vivência e companheirismo durante todo o processo e pela valiosa oportunidade de desenvolver um trabalho verdadeiramente interdisciplinar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio fundamental ao desenvolvimento do projeto e concessão da bolsa.

A todos os colegas da 8ª turma do PPGBAS pelos momentos de estudo, incentivo e descontração ao longo destes anos.

Aos participantes do projeto no Centro de Prevenção de Doenças Renais (CPDR) em nome da Dra. Érika Carneiro e Dra. Luana Azoubel, meus sinceros agradecimentos pela disponibilidade e contribuição na realização deste trabalho.

À Jeová Deus, pela permissão em vivenciar a tão almejada pós-graduação.

Aos meus pais Edson e Zélia e avós Antônio e Maria, minha inesgotável fonte de amor, cuidado e incentivo; que nunca mediram esforços para proporcionar alicerce e melhores oportunidades de vida às minhas irmãs e eu.

Às minhas irmãs Kananda e Lorena, minha família em São Luís. Que sempre estiveram ao meu lado durante esta jornada, compartilhando intimamente cada fase comigo.

Ao meu esposo Igor e maior incentivador para ser feliz nesta rota escolhida.

Honro todos vocês ao chegar aqui, desejo que Deus os abençoe fortemente e meu muito obrigada por fazerem este sonho se tornar realidade.

RESUMO

A doença renal crônica é caracterizada pela perda gradativa da função renal, com relevante impacto para a saúde pública por estar associada a carga de fatores de risco cardiovascular e à mortalidade prematura. Por ser uma doença multifatorial, variantes genéticas podem estar envolvidas em sua patogênese e nesse contexto, existe um interesse em examinar a associação entre o polimorfismo Glu298Asp dentro da enzima óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) do gene NOS3 e a presença de problemas cardiometabólicos em pacientes renais. Dessa forma, o estudo teve por objetivo avaliar os fatores de risco cardiometabólico, bem como perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e sua associação com o polimorfismo do gene NOS3 em pacientes renais crônicos. Trata-se de um estudo transversal, realizado com 95 pacientes acompanhados em um centro de prevenção de Doença Renal e universitários. Foram avaliados dados sociodemográficos, antropométricos, bioquímicos e hemodinâmicos. Para determinação da frequência do polimorfismo Glu298Asp, foi realizado a extração do DNA a partir de sangue total, seguido de amplificação através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com primers específicos e submetidos à reação de sequenciamento de DNA. Para a análise estatística foi utilizado o *software* SPSS® versão 25.0, sendo aplicado os testes *t* de *Student* e ANOVA *One Way* para comparação entre os grupos. A curva ROC avaliou os melhores preditores não invasivos da síndrome metabólica (SM). Os resultados no que se refere a epidemiologia foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Houve prevalência do sexo feminino ($p < 0,001$) e alterações na glicemia, frações lipídicas, pressão arterial, índice de massa corporal (IMC), gordura corporal (%), circunferência da cintura e risco para SM no grupo renal. Os melhores preditores não invasivos de SM foram a relação cintura-estatura (AUCROC=0,85), IMC (AUCROC=0,80) e percentual de gordura corporal (AUCROC=0,80). E na análise polimórfica, 65 indivíduos foram considerados homozigotos normais, um indivíduo homozigoto mutado e 28 considerados heterozigotos. A presença do risco para síndrome metabólica demonstra maior risco cardiometabólico no grupo renal. Foi evidenciado a presença de um único indivíduo com o polimorfismo Glu298Asp, entretanto não foi possível associar sua presença com o risco cardiometabólico. E quanto aos melhores preditores não invasivos de SM foram destacados a relação cintura-estatura, índice de massa corporal e percentual de gordura corporal.

Palavras-chave: Polimorfismo Glu298Asp. Gene NOS3. Risco cardiometabólico. Síndrome metabólica. Doença Renal Crônica.

ABSTRACT

Chronic kidney disease is characterized by the gradual loss of kidney function, with a relevant impact on public health as it is associated with a burden of cardiovascular risk factors and premature mortality. As it is a multifactorial disease, genetic variants may be involved in its pathogenesis and in this context, there is interest in examining the association between the Glu298Asp polymorphism within the enzyme endothelial nitric oxide synthase (eNOS) of the NOS3 gene and the presence of cardiovascular problems in kidney patients. Thus, the study aimed to evaluate cardiometabolic risk factors, as well as biochemical profile, anthropometric parameters and their association with NOS3 gene polymorphism in chronic kidney disease patients. This is a cross-sectional study, carried out with 95 patients monitored at a kidney disease prevention center and university students. Sociodemographic, anthropometric, biochemical and hemodynamic data were evaluated. To determine the frequency of the Glu298Asp polymorphism, DNA was extracted from whole blood, followed by amplification through Polymerase Chain Reaction (PCR) with specific primers and submitted to a DNA sequencing reaction. For the statistical analysis, the SPSS® software version 25.0 was used, with Student's t tests and ANOVA One Way being applied for comparison between groups. The ROC curve evaluated the best non-invasive predictors of metabolic syndrome (MS). The results regarding epidemiology were considered significant when $p < 0.05$. There was a prevalence of females ($p < 0.001$) and changes in blood glucose, lipid fractions, blood pressure, body mass index (BMI), body fat (%), waist circumference and risk for MS in the renal group. The best non-invasive predictors of MS were waist-height ratio (AUCROC=0.85), BMI (AUCROC=0.80) and body fat percentage (AUCROC=0.80). And in the polymorphic analysis, 65 individuals were considered normal homozygotes, a mutated homozygote individual and 28 considered heterozygotes. The presence of risk for metabolic syndrome demonstrates a higher cardiometabolic risk in the renal group. The presence of a single individual with the Glu298Asp polymorphism was evidenced, however it was not possible to associate its presence with cardiometabolic risk. And as for the best non-invasive predictors of MS, the waist-to-height ratio, body mass index and body fat percentage were highlighted.

Keywords: Polymorphism Glu298Asp. NOS3 gene. Cardiometabolic risk. Metabolic syndrome. Chronic Kidney Disease.

LISTA DE SIGLAS

ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
ADA – *American Diabetes Association*
CB – Circunferência do Braço
CC – Circunferência da Cintura
CKD-EPI – *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*
CP – Circunferência do Pescoço
CPant – Circunferência da Panturrilha
CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
DCNT – Doenças Crônicas não Transmissíveis
DCV – Doenças Cardiovasculares
DM – Diabetes Mellitus
DNA – Ácido desoxirribonucleico
eNOS – Óxido nítrico-sintase endotelial
ELSA - Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
FRC – Fatores de Risco Cardiovascular
GC – Gordura corporal
HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL – Lipoproteína de alta densidade
HUUFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
IDF – *International Diabetes Federation*
IMC – Índice de Massa Corporal
IR – Insuficiência Renal
KDIGO – *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*
LDL- Lipoproteína de baixa densidade
NCEP-ATPIII – *National Cholesterol Education Program-Third Adult Treatment Panel III*
OMS – Organização Mundial da Saúde
NO – Óxido nítrico
NOS3- Óxido nítrico sintase 3
OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde
PA – Pressão Arterial
PAD – Pressão Arterial Diastólica
PAS – Pressão Arterial Sistólica
PCR-Reação em Cadeia da Polimerase
R - Resistência
RCE – Relação Cintura-Estatura
RCQ – Relação Cintura-Quadril
RCM-Risco cardiometabólico
SBN- Sociedade Brasileira de Nefrologia
SM – Síndrome Metabólica
SNP - Polimorfismo do Nucleotídeo Único
SUS – Sistema Único de Saúde
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG – Taxa de Filtração Glomerular
TRS – Terapias Renais Substitutivas
UEMA – Universidade Estadual do Maranhão

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1 - Estadiamento da DRC de acordo com a função renal decrescente definida pela TFG. 17

Figura 2 - Modificações pós-traducionais do polimorfismo eNOS (894G>T). 18

Capítulo II

Figura 1 - Área sob a Curva Roc. 41

Figura 2 - Eletroferograma de sequenciamento automático da região polimórfica do eNOS 894G>T de três pacientes homozigoto normal, homozigoto mutado e heterozigoto, respectivamente. 42

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1 - Perfil sociodemográfico, antropométrico e composição corporal dos pacientes renais e hígido (n=95).	36
Tabela 2 - Perfil hemodinâmico e bioquímico dos pacientes renais e hígido (n=95).	37
Tabela 3 - Prevalência de parâmetros sociodemográficos e clínicos estratificada por grupo (n=95).	37
Tabela 4 - Caracterização sociodemográfica, antropométrica, bioquímica e hemodinâmica da amostra estratificada por estágio da DRC (n=58).	39
Tabela 5 - Preditores de síndrome metabólica não invasivos.	40
Tabela 6 - Frequência para o polimorfismo eNOS 894G>T nos pacientes renais e hígido (n=94).	41

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação foi desenvolvida no Laboratório de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) campus Caxias, Laboratório de Aquisição e Processamento de Sinais (LAPS) da UEMA, campus São Luís e no Laboratório de Processamento da Informação Biológica (PIB) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Faz parte de um projeto guarda-chuva fomentado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e o Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA (EDITAL 10/2018) e com aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão CAAE: 67030517.5.0000.5087 e parecer 4.721.142. Está estruturada em dois capítulos onde no primeiro apresenta-se uma breve introdução, fundamentação teórica, objetivos e referências. No segundo apresenta-se um manuscrito que será submetido à *BMC Nephology*.

SUMÁRIO

Capítulo I

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Doença Renal Crônica	15
2.1.1 <i>Epidemiologia</i>	15
2.1.2 <i>Estadiamento da Doença Renal Crônica</i>	16
2.2 Polimorfismo do gene NOS3 (Glu298Asp)	17
2.3 Risco Cardiometabólico (RCM)	19
2.3.1 <i>Fatores de risco</i>	20
3 OBJETIVOS	22
REFERÊNCIAS	22
Capítulo II	26
PREVALÊNCIA DE SÍNDROME METABÓLICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS	27
Resumo	27
Introdução	28
Métodos	30
Resultados	36
Discussão	42
Conclusão	49
Referências	

1. INTRODUÇÃO

As Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) são consideradas um grave problema saúde pública, por serem a principal causa de óbito da atualidade, ocasionarem mortalidade prematura e menor qualidade de vida, além de considerável sobrecarga no sistema de saúde (WHO, 2020). No Brasil, suas consequências são igualmente relevantes, quando consideradas responsáveis por 41,8% de mortes prematuras ocorridas em 2019 (BRASIL, 2021).

Dentre as DCNT, destaca-se a Doença Renal Crônica (DRC), caracterizada pela anormalidade da estrutura ou função renal, presente em um período mínimo de três meses (STEVENS; LEVIN, 2013). Essas anormalidades podem ser representadas pela taxa de filtração glomerular (TFG) diminuída quando $<60\text{ml/min/1,73m}$ e/ou a presença de um ou mais marcadores de dano renal (CHARLES; FERRIS, 2020).

A prevalência de DRC ainda é desconhecida em muitos países (SARAN *et al.*, 2018). Entretanto, vem aumentando como resultado da crescente incidência de fatores de risco associados a lesão renal, como: diabetes, hipertensão, envelhecimento, obesidade, doenças cardiovasculares e tabagismo (AGUIAR *et al.*, 2020). No Brasil, foi possível perceber sua proporção quando em uma pesquisa Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA), realizada em seis instituições de pesquisa em capitais brasileiras, a prevalência de DRC entre os participantes foi de 8,9% (BARRETO *et al.*, 2016).

Por se tratar de uma patologia progressiva e ter forte associação com as doenças cardiovasculares (DCV), cuja existência está associada a maior morbidade, hospitalizações e mortalidade na população (SOUZA *et al.*, 2019), o diagnóstico precoce da DRC é considerado essencial para o tratamento adequado e qualidade de vida do paciente (FERRARA *et al.*, 2019). Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS, 2017), as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 17,7 milhões de mortes em 2015, correspondendo a 31% de causas no mundo. No Brasil, 29,8% (total de 339.672 mil pessoas) dos óbitos foram decorrentes de DCV no ano de 2013 (SOCERJ, 2017).

A DRC causa, em média, 2,4 milhões de mortes por ano e traz impacto negativo na vida do indivíduo, com mudanças nos hábitos e na rotina do paciente, podendo incluir o uso contínuo de medicamentos, restrições hídricas, afastamento do trabalho, limitações físicas e nutricionais, e dependência de acompanhamento clínico

ambulatorial regular (JESUS *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019; OLCZYK *et al.*, 2022). Além disso, segundo Neves *et al.* (2021) o Sistema Único de Saúde (SUS) continua sendo o principal financiador do tratamento de alguma modalidade de terapia renal substitutiva no país, correspondendo a 79% dos pacientes em tratamento, o que acarreta elevado custo para a saúde pública.

É extremamente importante a avaliação de fatores de risco cardiovascular em indivíduos com DRC para além de identificar possíveis alterações cardiometabólicas, avaliar o efeito dos tratamentos, tendo em vista reduzir o risco de óbitos nestes pacientes (SBC, 2019). E, para isso, a utilização de medidas antropométricas e bioquímicas representam importantes medidas para esse monitoramento, visto que são capazes de mensurar alterações clínicas (fenotípicas e metabólicas) nas quais são observadas na DRC (AMMIRATI, 2020; SOUZA *et al.*, 2019).

Neste contexto, existe uma associação entre o polimorfismo Glu298Asp dentro da enzima óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) e a presença de problemas cardiovasculares em pacientes renais (CHAND *et al.*, 2015; MEDINA *et al.*, 2018). Embora, esse polimorfismo tenha sido associado à disfunção endotelial e a progressão da DRC por meio dos efeitos do óxido nítrico que é importante para a integridade anatômica e funcional do endotélio vascular, não se sabe se ele está associado a uma maior prevalência de alterações metabólicas e do risco cardiovascular elevado nos estágios iniciais da DRC (CHAND *et al.*, 2015).

Desta forma a análise do polimorfismo genético associado a progressão da doença renal e suas possíveis implicações cardiometabólicas na população renal é de extrema importância, já que esse biomarcador genético, possivelmente, abrirá caminhos na prevenção de desfechos deletérios e subsequente morbidade relacionados às nefropatias. Após o exposto, apresentamos como objetivo avaliar os fatores de risco cardiometabólico, bem como perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e sua associação com o polimorfismo do gene NOS3 em pacientes renais crônicos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Doença Renal Crônica

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva e irreversível da função renal, ocasionando um desequilíbrio metabólico e hidroeletrolítico do organismo por um período mínimo de três meses (STEVENS; LEVIN, 2013). Representa um sério problema para saúde pública devido a sua frequência crescente, associada à mortalidade prematura com importantes implicações sociais e econômicas (ASENEH *et al.*, 2020).

Diversos fatores estão associados ao desenvolvimento da DRC, entre as quais podem ser destacadas hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Segundo o último Inquérito Brasileiro de Diálise (2019), a nefropatia hipertensiva (34%) seguida pelo diabetes (31%) são as principais doenças de base nos pacientes prevalentes (NEVES *et al.*, 2021) proporções que vem se mantendo estáveis em 2020 (NERBASS *et al.*, 2022). Já nos Estados Unidos, Europa, assim como demais países do mundo, a diabetes mellitus se mantém como a principal causa da doença renal (NEVES *et al.*, 2021).

Destaca-se ainda o sobrepeso e/ou obesidade em 41% como demais alterações endócrinas associadas a esta patologia (NEVES *et al.*, 2021). A obesidade confere um risco aumentado para DRC, condição que afeta ainda mais anormalidades metabólicas concomitantes (ARINSOY *et al.*, 2016). Estudos apontam ainda as dislipidemias, histórico de doença cardiovascular e outras patologias relacionadas aos rins, como glomerulonefrite e infecções do trato urinário superior como fatores de risco. Também são associados à sua progressão, idade avançada, sexo, raça ou etnia, tabagismo, doenças autoimunes e exposição contínua de substâncias nefrotóxicos (STEVENS; LEVIN, 2013; AMMIRATI, 2020; ASENEH *et al.*, 2020; STOLPE *et al.*, 2021).

2.1.1 Epidemiologia

Segundo Chen, Knicely e Grams (2019) a DRC afeta 8% a 16% da população mundial e o número de pessoas que necessitam de alguma terapia renal substitutiva (TRS) no mundo está estimado para aumentar para 5,4 milhões de pessoas até 2030, com a maior abrangência nos países em desenvolvimento (GLASSOCK; WARNOCK; DELANAYE, 2017). No Brasil, segundo o Inquérito Brasileiro de Diálise, em 2019 manteve tendência do aumento progressivo de pacientes em diálise no país

correspondendo a um número total estimado de 139.691 mil indivíduos e no estado do Maranhão a prevalência anual estimada foi de 338 pacientes por milhão (NEVES *et al.*, 2021).

Segundo Neves *et al.* (2021) o Sistema Único de Saúde (SUS) continua sendo o principal financiador do tratamento de alguma modalidade de terapia renal substitutiva no país, correspondendo a 79% dos pacientes em tratamento, o que acarreta elevado custo para a saúde pública. Desta forma, a implementação de tratamentos preventivos que retardam a progressão para os estágios mais avançados da DRC é de grande auxílio para saúde pública, visto que beneficiam a qualidade de vida dos pacientes e diminuem os custos financeiros associados ao tratamento da DRC.

2.1.2 Estadiamento da Doença Renal Crônica

A função renal é classificada com base na estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) quando inferior de 60ml/min/1,73m² e/ou dano renal. A TFG, por sua vez, é realizada utilizando equações de predição que incorporam creatinina sérica, sexo, idade e raça, como a Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI). Valores inferiores a esse nível, aumenta os riscos de complicações da DRC e desfechos deletérios (STEVENS; LEVIN, 2013; STOLPE *et al.*, 2021; SKALSKY *et al.*, 2022).

De acordo com a Diretriz Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO), as categorias de TFG para a classificação da DRC são divididos em 5 estágios. O estágio 1 ocorre quando a TFG ≥ 90 mL/min/1.73m² na presença de proteinúria ou hematúria glomerular ou com alteração no exame de imagem. No estágio 2, a TFG varia de 60-89 mL/min/1.73 m². O estágio 3 quando a TFG varia de 30-59 mL/min/1.73 m², e apresenta subdivisão nas categorias G3a (45 a 59 mL/min por 1,73 m²) e G3b (30 a 44 mL/min por 1,73 m²). E os estágios 4 e 5, indicam lesão renal severa com a TFG variando de 15-29 mL/min/1.73m² e <15 mL/min/1.73m², respectivamente conforme figura 1 (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013).

O diagnóstico precoce da DRC é considerado um grande desafio, visto que nos estágios iniciais a doença pode permanecer assintomática e as manifestações clínicas típicas da disfunção renal, apresentam-se entre os estágios de insuficiência renal moderada a severa (AMMIRATI, 2020). Nos estágios 1 e 2 da DRC a função renal é preservada, porém pode haver presença de algum marcador de dano renal, como

albuminúria, hematúria e proteinúria. Entretanto nos estágios 3 ao 5, a TFG encontra-se alterada ou em falência e ao chegar no estágio terminal é necessário a realização de alguma terapia renal substitutiva (TRS) como hemodiálise, diálise peritoneal ou transplante. Ao chegar neste estágio, aumenta os riscos de efeitos deletérios, eventos cardiovasculares, hospitalizações e mortalidade, por isso seu monitoramento é realizado também com base em diversos fatores clínicos, incluindo as comorbidades que a envolvem (STEVENS; LEVIN, 2013; SOUZA *et al.*, 2019).

Figura 1 - Estadiamento da DRC de acordo com a função renal decrescente definida pela TFG.

Prognóstico de DRC por TFG e Categorias de Albuminúria: KDIGO 2012				Categorias de albuminúria persistente. Descrição e alcance		
				A1	A2	A3
				Normal a ligeiramente aumentado	Moderadamente aumentado	Gravemente aumentado
				< 30 mg/g <3 mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g 30 mg/mmol
Categorias TFG (ml/min/1,73 m ²). Descrição e alcance	G1	Normal ou alto	≥90			
	G2	Levemente diminuída	60-89			
	G3a	Levemente a moderadamente diminuída	45-59			
	G3b	Moderadamente a gravemente diminuída	30-44			
	G4	Gravemente diminuída	15-29			
	G5	Insuficiência renal	<15			
Verde: baixo risco (se não houver outros marcadores de doença renal, sem DRC); Amarelo: risco moderadamente aumentado; Laranja: alto risco; Vermelho: risco muito alto.						

Abreviações: DRC doença renal crônica; TFG taxa de filtração glomerular estimada.
Fonte: KDIGO (2013).

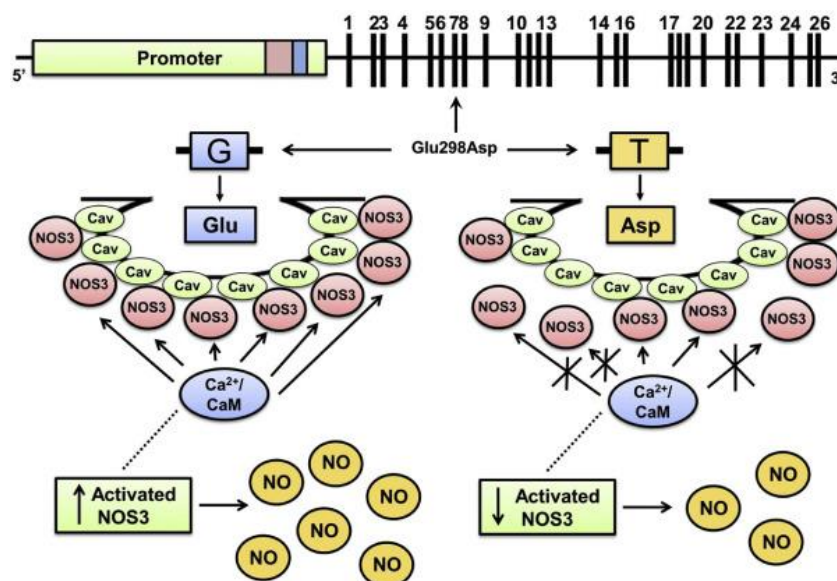
2.2 Polimorfismo do gene NOS3 (Glu298Asp)

Um dos mecanismos mais importantes para o funcionamento adequado do endotélio é a regulação da síntese de óxido nítrico. O óxido nítrico (NO) é um potente vasodilatador, atuante na homeostase do tônus vascular, formado a partir da conversão da L-arginina pela ação da enzima sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS). A eNOS gera continuamente NO e como não pode ser armazenado, a sua produção é controlada por meio da regulação da expressão ou atividade da enzima. O produto desta reação possui papel central no controle do sistema cardiovascular e na prevenção de doenças metabólicas, como alterações glicêmicas e lipídicas que estão associadas à sua menor produção (MONCADA; PALMER; HIGGS, 2006; IMAMURA *et al.*, 2008; PICCOLI *et al.*, 2008).

O gene humano da *NOS3* está localizado na região 7q35-7q36 do cromossomo 7, contém 26 exons e trata-se de um gene com inúmeras variações genéticas (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANOS-SANTOS, 2017). Alterações genéticas conhecidas como polimorfismo no gene da enzima eNOS (*NOS3*) foram associadas a disfunção endotelial, mostrando que a presença de polimorfismo no gene da eNOS pode ser um fator desencadeador de doenças cardiometabólicas. Entre os polimorfismos do gene da eNOS mais estudados e clinicamente relevantes, estão os polimorfismos caracterizados pela substituição de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphism* – SNP) (MALAGRINO *et al.*, 2013).

O polimorfismo Glu298Asp conhecido como polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs1799983, resulta de uma substituição de guanina por timina na posição 894 do exon 7 do gene *NOS3* levando a uma alteração protéica com troca de um resíduo do aminoácido glutamina por aspartato na posição 298 da proteína. Este SNP afeta a funcionalidade do gene *NOS3* e promove modificações pós-traducionais. Essa alteração diminui a ligação de *NOS3* a caveolina-1 e, portanto, reduz a disponibilidade de *NOS3* na fração cavernosa nas células endoteliais. Em decorrência deste efeito, ocorre menor disponibilidade também de *NOS3* para ativação da calmodulina ativada por cálcio, resultando na diminuição da atividade e alteração morfológica (mais curto) do gene *NOS3* com consequente redução da produção de óxido nítrico (figura 2) (MEDIDA *et al.*, 2017; OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANOS-SANTOS, 2017).

Figura 2: Modificações pós-traducionais do polimorfismo eNOS (894G>T).



Fonte: Oliveira-Paula; Lacchini; Tanos-Santos, (2017).

O avanço das tecnologias de sequenciamento de DNA tem favorecido o aumento dos estudos focados em variantes polimórficas de uma única posição nucleotídica. Dentre elas, destaca-se o estudo de SNPs com aplicações médicas, que incluem associação dos mesmos com manifestações clínicas ou patológicas, podendo ser também utilizadas no diagnóstico, prognóstico ou seleção de abordagem terapêutica para diversos tipos de enfermidades (TEAMA, 2018).

Nesse sentido, o polimorfismo Glu298Asp tem sido associado a DCV, tais como a doença arterial coronariana, a aterosclerose, o espasmo coronariano induzido pela acetilcolina e a hipertensão arterial. Outras condições associadas são doença de Alzheimer, hipertensão induzida pela gravidez, câncer vesical e da próstata, nefropatia diabética, endometriose (MALAGRINO *et al.*, 2013; OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANOS-SANTOS, 2017), disfunção endotelial em adultos jovens saudáveis (IMAMURA *et al.*, 2008) glaucoma primário e características da síndrome metabólica como resistência à insulina, hipertrigliceridemia e baixas concentrações de colesterol HDL-c (MONTI *et al.*, 2003; GONZALEZ-SANCHEZ *et al.*, 2007; IMAMURA *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2009; FATTAKHOV *et al.*, 2017).

A DRC por sua vez, é considerada uma doença multifatorial, onde variantes genéticas também podem estar envolvidas em seu processo de patogênese e deterioração. Desta forma, existe uma associação entre o polimorfismo Glu298Asp dentro da enzima óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) e a presença de problemas cardiovasculares em pacientes renais (CHAND *et al.*, 2015). Uma vez que na insuficiência renal crônica, as funções hemodinâmicas nos glomérulos renais são comprometidas pela produção reduzida de óxido nítrico que pode acelerar a deterioração da função renal e consequentemente as alterações metabólicas e comorbidades associadas (MEDINA *et al.*, 2018). A investigação genética é um campo que pode auxiliar na sua fisiopatologia e na identificação de populações mais vulneráveis ao desenvolvimento de DCV e lesão renal.

2.3 Risco Cardiometabólico (RCM)

Eventos e doenças cardiovasculares são mais frequentes e graves em pacientes renais quando comparada com a população geral, visto que a presença da DRC está associada independentemente ao aumento das taxas de DCV. Estudos demonstram que a DCV é a principal causa de morte entre os pacientes renais e por

isso, este grupo requer maior atenção clínica (GANSEVOORT *et al.*, 2013; FERRARA *et al.*, 2019; SKALSKY *et al.*, 2022).

Por estar associada a implicações clínicas importantes, e sabendo que o aumento do risco cardiovascular é multifatorial podendo ser uma condição tratável e potencialmente prevenível, a avaliação dos pacientes com DRC deve ser realizada periodicamente com base nos fatores de risco estabelecidos. Para isso, a avaliação de medidas antropométricas e bioquímicas são essenciais para identificar alterações cardiometabólicas que podem comprometer doenças de base em pacientes com DRC (FERRARA *et al.*, 2019; AMMIRATI, 2020; NAKASHIMA *et al.*, 2021).

2.3.1 Fatores de risco

A Síndrome Metabólica (SM) é considerada um conjunto de fatores de risco cardiometabólico, usualmente relacionados ao desenvolvimento de resistência à insulina e acúmulo de gordura. Entre este agrupamento de fatores, estão a resistência à insulina, hipertensão, dislipidemia (especificamente hipertrigliceridemia e níveis reduzidos de colesterol de lipoproteína de alta densidade - HDL) e obesidade central (VIAZZI *et al.*, 2017; MCCracken; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2018). É considerada um distúrbio multifatorial que potencialmente inclui componentes genéticos de proteínas estruturais e reguladoras envolvidas em sua patogênese (PICCOLI *et al.*, 2008).

Todos os componentes da SM têm efeitos adversos no endotélio e corroboram a maior disfunção endotelial, condição que desempenha um papel fundamental na patogênese de problemas cardiovasculares e pode aumentar o risco de complicações metabólicas já existentes (FATTAKHOV *et al.*, 2017). A resistência à insulina, ativação neuro-hormonal e a inflamação crônica parecem ser os principais responsáveis pelo início, progressão e transição da SM para DCV (ROCHLANI *et al.*, 2017).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) além de ser fator de risco, também é resultado da lesão renal e progressão da DRC. É considerada a segunda causa mais importante depois do diabetes e um fator de risco independente para outros eventos cardiovasculares como acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca e doença arterial periférica (MALHOTRA *et al.*, 2017). A ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que é reconhecido tanto na DRC quanto na insuficiência cardíaca, desempenha importante papel na manutenção da homeostase cardiovascular. O aumento da atividade desse sistema contribui para o

comprometimento da função endotelial, e por isso, o controle inadequado da pressão arterial pode causar alterações vasculares devido ao aumento de substâncias vasoconstritoras e estresse mecânico, ocasionando perda mais rápida da função renal (GANSEVOORT *et al.*, 2013; CHEN; KNICELY; GRAMS, 2019).

Em pacientes com função renal prejudicada, os perfis lipídicos tornam-se aterogênicos, devido à função defeituosa do colesterol HDL e à oxidação excessiva do colesterol LDL (GANSEVOORT *et al.*, 2013). Deve ser dada atenção especial aos pacientes transplantados, pois o uso concomitante de alguns agentes imunossupressores pode ter efeitos adversos no metabolismo lipídico, pode causar distúrbios lipídicos e resultar em aumento do risco de miopatia ou rabdomiólise devido a interações medicamentosas (SKALSKY *et al.*, 2022).

A obesidade aumenta o risco de desenvolver diabetes e hipertensão, doenças de base que são as duas principais causas de DRC. Além disso, em indivíduos obesos, ocorre hiperfiltração compensatória para atender às demandas metabólicas aumentadas devido ao excesso de peso corporal. Com o aumento da pressão intraglomerular pode haver deterioração dos rins e aumentar o risco de desenvolver DRC a longo prazo (CONLEY *et al.*, 2021). Na obesidade, citocinas inflamatórias, como interleucina (IL)-1, IL-6 e TNF- α , aumentam e são relatadas como indutoras de condições de resistência à insulina (RI) mais elevadas levando prejuízos para a função renal (NAKASHIMA *et al.*, 2021).

O diabetes mellitus (DM) está associado a um risco cerca de duas vezes maior para doenças cardiovasculares, independentemente de outros fatores de risco convencionais. Cerca de 30% dos pacientes com DM tipo 1 e 40% com DM tipo 2 desenvolvem DRC. Desta forma, estes pacientes podem apresentar maiores taxas de doenças cardiovasculares e devem ser considerados grupo de maior risco para prognóstico e manejo terapêutico (SHIYOVICH *et al.*, 2021).

A resistência à insulina aumenta à medida que a função renal diminui em pacientes renais, podendo ser influenciada pelos mecanismos de inflamação crônica, estresse oxidativo, obesidade e distúrbio mineral ósseo. Onde o número de receptores de insulina e sua capacidade de acoplamento da insulina são modificados, as toxinas urêmicas induzem a produção de espécies reativas de oxigênio (eROS) e aumentam as adipocinas (NAKASHIMA *et al.*, 2021; SKALSKY *et al.*, 2022).

Desta forma alcançar o melhor controle possível de fatores de risco modificáveis, como diabetes, hipertensão, dislipidemia, obesidade, exposição

continua a agentes nefrotóxicos e intervenções no estilo dentre os quais destacam-se a cessação do tabagismo, modificações dietéticas e a prática de atividade física estão associados ao alívio da progressão da DRC e consequente prevenção do risco de eventos cardiovasculares (STEVENS; LEVIN, 2013; FERRARA *et al.*, 2019).

Diante do exposto faz-se necessário avaliar os fatores de risco cardiometabólico, bem como perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e sua associação com o polimorfismo do gene NOS3 em pacientes renais crônicos, proposto neste estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar os fatores de risco cardiometabólico, bem como perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e sua associação com o polimorfismo do gene NOS3 em pacientes renais crônicos.

3.1 Específicos

- Identificar o risco cardiometabólico nos pacientes renais;
- Verificar a presença do polimorfismo do gene NOS3 (Glu298Asp);
- Associar a presença do polimorfismo do gene NOS3 (Glu298Asp) com o risco cardiovascular, variáveis bioquímicas e antropométricas;
- Analisar o desempenho de variáveis não invasivas como preditores de risco cardiometabólico através da Síndrome Metabólica (SM) em pacientes renais.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. K. *et al.* Factors associated with chronic kidney disease: epidemiological survey of the National Health Survey. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, n. 0, p. 01-15, 2020.

AMMIRATI, A. L. Chronic Kidney Disease. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 66, n. 1, p. 03-09, 2020.

ARINSOY, T. *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in Turkish adults with obesity and metabolic syndrome: A post hoc analysis from chronic renal disease in turkey study. **Journal of Renal Nutrition**, v. 26, n.6, p. 373–379, 2016.

ASENEH, J. B. *et al.* Chronic kidney disease in Cameroon: a scoping review. **BMC Nephrology**, v. 21, n. 1, p. 409, 2020.

BARRETO, S. M. *et al.* Chronic kidney disease among adult participants of the ELSA-Brasil cohort: association with race and socioeconomic position. **Journal of Epidemiology & Community Health**, v. 70, n. 4, p. 380-389, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Panorama da mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, DF, v. 52, n. 23, p. 13-20, jun. 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/junho/21/boletim_epidemiologico_svs_23.pdf. Acesso em: 04 jul. 2022.

CHAND, S. *et al.* Endothelial Nitric Oxide Synthase Single Nucleotide Polymorphism and Left Ventricular Function in Early Chronic Kidney Disease. **PLoS One**, v. 10, n.1, p.1-10, 2015.

CHARLES, C.; FERRIS, A. H. Chronic Kidney Disease. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 47, n. 4, 2020, p. 585-595.

CHEN, T. K.; KNICELY, D. H.; GRAMS, M. E. Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. **JAMA**, v. 322, n.13, p. 1294-1304, 2019.

CONLEY, M. M. *et al.* Interventions for weight loss in people with chronic kidney disease who are overweight or obese. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v.30, n. 3, 2021.

FATTAKHOV N. S. *et al.* Association of Glu298Asp Polymorphism of Endothelial NO Synthase Gene with Metabolic Syndrome Development: a Pilot Study. **Bulletin of experimental biology and medicine**, v. 162, n. 5, p. 615-618, 2017.

FERRARA, D. *et al.* Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 12, p. 21630-21641, 2019.

GANSEVOORT, R. T. *et al.* Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. **Lancet**, v. 382, n. 382, p. 339-52, 2013.

GLASSOCK, R. J.; WARNOCK D. G.; DELANAYE P. The global burden of chronic kidney disease: estimates, variability and pitfalls. **Nature Reviews Nephrology**, v. 13, n. 2, p. 104–14, 2017.

GONZALEZ-SANCHEZ, J. L. *et al.* Endothelial nitric oxide synthase haplotypes are associated with features of metabolic syndrome. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 91–97, 2007.

IMAMURA, A. *et al.* The effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on endothelial function and metabolic risk factors in healthy subjects: the significance of plasma adiponectin levels. **European Journal of Endocrinology**, v. 158, n. 2, p. 189-195, 2008.

JESUS, N. M. *et al.* Quality of life of individuals with chronic kidney disease on dialysis. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 41, n. 3, p. 364-374, 2019.

KIM, H. *et al.* Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism is associated with advanced stage endometriosis. **Human Reproduction**, v. 24, n. 10, p. 2656-9, 2009.

MALAGRINO, P. A. *et al.* Prevalência de dislipidemia em adultos de meia-idade com polimorfismo do gene NOS3 e baixa aptidão cardiorrespiratória. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 1, p. 33-43, 2013.

MALHOTRA, R. *et al.* Association Between More Intensive vs Less Intensive Blood Pressure Lowering and Risk of Mortality in Chronic Kidney Disease Stages 3 to 5: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA Internal Medicine**, v. 177, n. 10, p.1498-1505, 2017.

MCCRACKEN, E.; MONAGHAN M.; SREENIVASAN S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. **Clinics in dermatology**, v. 36, n. 1, p. 14-20, 2018.

MEDINA, A. M. *et al.* Polimorfismos NOS3 e Insuficiência Renal Crônica. **Brazilian Journal of Nephrology**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 273-277, 2018.

MONCADA, S.; PALMER, R. M.; HIGGS, E. A. Nitric oxide and the vascular endothelium. **Pharmacological Reviews**, v. 43, n. 2, p. 213-54, 2006.

MONTI, L. D. *et al.* Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome. **Diabetes**, v. 52, n. 5, p. 1270–1275, 2003.

NAKASHIMA, A. *et al.* Role and Treatment of Insulin Resistance in Patients with Chronic Kidney Disease: A Review. **Nutrients**, v. 13, n. 12, p.4349, 2021.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney International Supplements**, v. 3, n. 1, p. 1-150, 2013. Disponível em: <http://goo.gl/gZcgU5>. Acesso em: 05 dez. 2021.

NERBASS, F. B. *et al.* Brazilian Dialysis Survey 2020. **Brazilian Journal of Nephrology**. [online]. 2022 Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2021-0198>. Acesso em: 14 jul. 2022.

NEVES, P. D. M. de M. *et al.* Inquérito brasileiro de diálise 2019. **Brazilian Journal of Nephrology**. v. 00, n. 0, p. 1-11, jan. 2021. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/jbn/2021nahead/pt_2175-8239-jbn-2020-0161.pdf. Acesso em: 26 mai 2021.

OLCZYK, P. *et al.* Cognitive Impairment in End Stage Renal Disease Patients Undergoing Hemodialysis: Markers and Risk Factors. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.19, n. 4, p.2389, 2022.

OLIVEIRA-PAULA, G. H. O.; LACCHINI, R.; TANOS-SANTOS J. E. Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases. **Nitric Oxide**, v. 63, p. 39-51, 2017.

PICCOLI, J. C. E. *et al.* Association between 894G>T endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 8, p. 1367-1373, 2008.

ROCHLANI, Y. *et al.* Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. **Therapeutic advances in cardiovascular disease**, v. 11, n.8, p. 215-225, 2017.

SARAN, R. *et al.* US Renal Data System 2017 Annual Data Report: epidemiology of kidney disease in the United States. **American Journal of Kidney Diseases**, vol.71, supl.1, 2018.

SBC - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.113, n.4, 2019.

SHIYOVICH, A. *et al.* Acute Kidney Injury Following Admission with Acute Coronary Syndrome: The Role of Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 21, p. 4931, 2021.

SKALSKY, K. *et al.* Chronic Renal Failure and Cardiovascular Disease: A Comprehensive Apaisa. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 5, p.1335, 2022.

SOCERJ - SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. **Manual de prevenção cardiovascular**. 1 ed. São Paulo: Planmark, 2017.

SOUZA, W. *et al.* Incidence of chronic kidney disease hospitalisations and mortality in Espírito Santo between 1996 to 2017. **PLoS ONE**, v. 14, n 11, p. 01 - 13, 2019.

STEVENS, P. E.; LEVIN, A. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. **Annals of Internal Medicine**, v. 158, p. 825–830, 2013.

STOLPE, S. *et al.* High Unawareness of Chronic Kidney Disease in Germany. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 22, p.11752, 2021.

TEAMA S. DNA polymorphisms: DNA-based molecular markers and their application in medicine. In: Genetic Diversity and Disease Susceptibility. **IntechOpen**. Londres, Reino Unido. 2018. VIAZZI, F. *et al.* Metabolic syndrome, serum uric acid and renal risk in patients with T2D. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, p.1-12, 2017.

WHO, **World Health Organization**. Noncommunicable diseases progress monitor 2020. Geneva, 2020. Disponível em: https://www.who.int/publications_detail/ncd-progress-monitor-2020. Acesso em: 21 fev 2021.

Capítulo II

PREVALÊNCIA DE SÍNDROME METABÓLICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS

A ser submetido à BMC Nephology.

Prevalência de Síndrome Metabólica e sua associação com os pacientes renais

Naruna Aritana Costa Melo^{1*}, Nilviane Pires Silva Sousa², Allan Kardec Duailibe Barros Filho³, Luana Monteiro Anaisse Azoubel⁴, Érika Cristina Ribeiro de Lima Carneiro⁴, Elmary da Costa Fraga¹, Ewaldo Eder Carvalho Santana⁵, Maria Claudene Barros¹

Resumo

Introdução: A Síndrome Metabólica (SM) constitui-se como um agrupamento de componentes que promovem a disfunção endotelial, na qual vem sendo associado com o polimorfismo Glu298Asp dentro da enzima óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) especialmente em pacientes renais. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de SM e sua associação com o perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e polimorfismo do gene NOS3 em pacientes renais crônicos. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, realizado com 95 indivíduos classificados como grupo renal de um hospital universitário e grupo controle representados por universitários. Foram avaliados dados sociodemográficos, antropométricos, bioquímicos, hemodinâmicos e polimorfismo de DNA. Para determinação da frequência do polimorfismo Glu298Asp, foi realizado a extração do DNA, amplificação genica através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e reação de sequenciamento. Para a análise estatística foi utilizado o *software* SPSS[®] versão 25.0 e os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. **Resultados:** Houve prevalência do sexo feminino ($p < 0,001$) e risco para SM no grupo renal. Os melhores preditores não invasivos de SM foram a relação cintura-estatura (AUCROC=0,85), índice de massa corporal (AUCROC=0,80) e percentual de gordura corporal (AUCROC=0,80). E na análise polimórfica, 65 indivíduos foram considerados homozigotos normais, um indivíduo homozigoto mutado e 28 considerados heterozigotos. **Conclusão:** A presença do risco para síndrome metabólica demonstra maior risco cardiometabólico no grupo renal. Foi evidenciado a presença de um único indivíduo com o polimorfismo Glu298Asp, entretanto não foi possível associar sua presença com o risco cardiometabólico. E quanto aos melhores preditores não invasivos de SM foram destacados a relação cintura-estatura, índice de massa corporal e percentual de gordura corporal.

Palavras-chave: Risco cardiometabólico. Síndrome Metabólica. Doença Renal Crônica. Polimorfismo Glu298Asp. Gene NOS3.

43 **Introdução**

44 A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva e
45 irreversível da função renal [1] e representa um dos principais problemas de saúde
46 pública da atualidade, devido sua frequência crescente, associada à mortalidade
47 prematura com importantes implicações sociais e econômicas [2].

48 Segundo Chen, Knicely e Grams [3] a DRC afeta 8% a 16% da população
49 mundial e o número de pessoas que necessitam de alguma terapia renal substitutiva
50 (TRS) no mundo está estimado com aumento para 5,4 milhões de pessoas até 2030,
51 com a maior abrangência nos países em desenvolvimento [4]. No Brasil, segundo o
52 Inquérito Brasileiro de Diálise, em 2019 manteve tendência do aumento progressivo
53 de pacientes em diálise no país correspondendo a um número total estimado de
54 139.691 mil indivíduos e no estado do Maranhão a prevalência anual estimada foi de
55 338 pacientes por milhão [5].

56 As complicações cardiovasculares são as principais causas de morte entre os
57 pacientes renais e por isso, este grupo requer maior atenção clínica [6;7;8]. Por estar
58 associada a implicações clínicas importantes, e sabendo que o aumento do risco
59 cardiovascular é multifatorial podendo ser uma condição tratável e potencialmente
60 prevenível, a avaliação dos pacientes com DRC deve ser realizada periodicamente
61 com base nos fatores de risco estabelecidos. Para isso, a avaliação de medidas
62 antropométricas e bioquímicas são essenciais para identificar alterações
63 cardiometabólicas que podem comprometer doenças de base em pacientes com DRC
64 [7;9;10].

65 Neste contexto, a Síndrome Metabólica (SM) é considerada um conjunto de
66 fatores de risco cardiometabólico associado a maior prevalência de eventos
67 cardiovasculares e diabetes mellitus (DM), fatores que estão envolvidos no

desenvolvimento da doença renal [11]. Paralelo a isso, existe uma associação entre o polimorfismo Glu298Asp dentro da enzima óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) e a presença de problemas cardiovasculares em pacientes renais [12].

O polimorfismo Glu298Asp conhecido como polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs1799983, resulta de uma substituição de guanina por timina na posição 894 do exon 7 do gene *NOS3* levando a uma alteração de glutamina em aspartato na posição 298 da proteína. Este SNP gera uma forma mais curta da enzima com consequente redução da produção de óxido nítrico [13].

Embora, esse polimorfismo tenha sido associado à disfunção endotelial e a progressão da DRC por meio dos efeitos do óxido nítrico que é importante para a integridade anatômica e funcional do endotélio vascular, não se sabe se ele está associado a uma maior prevalência de alterações metabólicas e do risco cardiovascular elevado nos estágios iniciais da DRC [12]. Uma vez que na insuficiência renal crônica, as funções hemodinâmicas nos glomérulos renais são comprometidas pela produção reduzida de óxido nítrico que pode acelerar a deterioração da função renal e consequentemente as alterações metabólicas e comorbidades associadas [14].

A prevenção das doenças cardiovasculares é encarada como prioridade no contexto de saúde pública, por isso torna-se extremamente relevante avaliar essa população de risco com a utilização de testes de fácil reprodutibilidade e baixo custo [15]. Nesse sentido, diante da SM ser um potencial fator de risco cardiometabólico sua detecção precoce torna-se necessária e os métodos de triagem para o rastreamento surgem como excelente ferramenta complementar para auxiliar nesse processo [16]. Face ao exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de síndrome

metabólica e sua associação com o perfil bioquímico, parâmetros antropométricos e polimorfismo do gene nos3 em pacientes renais crônicos.

Métodos

Desenho do estudo e população

Estudo transversal, realizado no Centro de Prevenção de Doenças Renais (CPRD) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA) e na Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), entre os anos de 2021 e 2022. A amostra foi dividida em grupos denominados Grupo renal, formado por pacientes atendidos no Centro de Prevenção de Doença Renal (CPDR) e o Grupo Controle, formado por universitários da Universidade Estadual do Maranhão (sem patologias de base).

Os pacientes em acompanhamento ambulatorial e os universitários de ambos os gêneros e idade ≥ 20 anos foram convidados a participar do estudo mediante explicação prévia das etapas da coleta e os que aceitaram participar voluntariamente assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos os voluntários que discordaram de algum procedimento durante a execução da pesquisa e que faltaram no dia da coleta de dados.

Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada mediante entrevista para aplicação do questionário semiestruturado com questões sociodemográficas, estilo de vida e de saúde autodeclarados, seguida de avaliação antropométrica, hemodinâmica e da composição corporal. Após estes procedimentos, foi marcado para o dia posterior, a coleta de sangue para os exames laboratoriais e análise do polimorfismo.

117 *Parâmetros Antropométricos*

118 A aferição dos indicadores antropométricos foi realizada por técnicas
119 padronizadas seguindo protocolo consolidados na literatura [17] e todas as medidas
120 sanitárias preconizadas pelo Organização Mundial de Saúde para evitar a propagação
121 e ou contaminação da doença coronavírus 2019 (COVID-19).

122 O peso foi aferido em balança eletrônica calibrada (Omron Healthcare®, HBF-
123 214, Japan). A altura foi determinada através de estadiômetro transportável vertical
124 (Seca® 213, Hamburg, Germany). A partir destes dados foi obtido o índice de massa
125 corporal (IMC) através da razão entre peso e o quadrado da altura, com classificação
126 do estado nutricional baseados nos pontos de corte de referência [18].

127 As circunferências do braço (CB), cintura (CC), quadril (CQ), panturrilha
128 (CPant) e a pescoço (Cpes) foram aferidas segundo protocolo padronizados [17]. A
129 relação cintura-quadril (RCQ) foi calculada pela seguinte fórmula: [circunferência da
130 cintura (cm) /circunferência do quadril (cm)] [19], com valores de corte de 0,90 para
131 homens e 0,85 para mulheres [18]. A relação cintura-estatura (RCE) foi calculada
132 através da fórmula: [circunferência da cintura (cm) /altura (cm)], com ponto de corte
133 de 0,5 [20].

134

135 *Composição corporal*

136 A análise do percentual de gordura corporal (%GC) foi realizada através do
137 aparelho de bioimpedância modelo tetrapolar (Maltron®, BF-906, Cardiomed/Brazil),
138 de acordo com os protocolos de uso estabelecido em seu manual instrumental. Com
139 a utilização da Análise de Impedância Bioelétrica (BIA), foi calculado o parâmetro
140 Ângulo de fase obtido através dos valores de reatância (Xc) e resistência (R). O ângulo

141 de fase foi estimado pela seguinte fórmula: ângulo de fase (°) = arco tangente (X_c/R)
142 $\times (180/\pi)$.

143

144 *Perfil Hemodinâmico*

145 A mensuração, classificação e protocolo de coleta da pressão arterial (PA)
146 foram baseadas no protocolo das Diretrizes Brasileira de Hipertensão Arterial (2020)
147 [21], com auxílio de aparelho monitor de pressão arterial de braço (OMRON®, modelo
148 HEM 7130).

149

150 *Avaliação Bioquímica*

151 Foi realizada a coleta de parâmetros bioquímicos: perfil lipídico, glicemia em
152 jejum, creatinina, ureia e ácido úrico dosadas em parceria com o Laboratório de
153 Análises Clínicas do laboratório de Processamento da Informação Biológica
154 (PIB/UFMA). As coletas foram realizadas por meio de punção venosa à vácuo, após
155 jejum de 12 horas e as análises foram realizadas mediante analisador bioquímico SX
156 3000 M.

157

158 *Classificação do risco cardiometabólico*

159 A classificação foi realizada através da análise de Síndrome Metabólica. A
160 avaliação do risco de SM foi definida de acordo com o proposto pela *International*
161 *Diabetes Federation* (IDF), o qual requer como fator obrigatório, a presença de
162 alterações na circunferência da cintura (≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para
163 mulheres), somado a outros dois componentes alterados. Dentre os quais podem ser
164 mencionados: triglicérides ≥ 150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia; HDL-
165 colesterol < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres ou tratamento para

dislipidemia; PAS $\geq$ 130 mmHg, PAD $\geq$ 85 mmHg, ou uso de anti-hipertensivo e glicemia de jejum $\geq$ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes [19].

Estadiamento da Doença Renal Crônica

Os estágios da DRC foram classificados de acordo com a taxa de filtração glomerular (TFG), avaliada por meio da dosagem sérica de creatinina. Para cálculo da estimativa do ritmo de filtração glomerular, utilizou-se a equação do *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) [22].

As categorias da TFG para a classificação da DRC são divididas em 5 estágios, conforme a Diretriz Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO). O estágio 1 ocorre quando a TFG $\geq$ 90 mL/min/1.73m² na presença de proteinúria ou hematúria glomerular ou com alteração no exame de imagem. O estágio 2, a TFG varia de 60-89 mL/min/1.73 m², o estágio 3 quando a TFG varia de 30-59 mL/min/1.73 m², e apresenta subdivisão nas categorias G3a (45 a 59 mL/min por 1,73 m²) e G3b (30 a 44 mL/min por 1,73 m²). E os estágios 4 e 5, indicam lesão renal severa quando a TFG varia de 15-29mL/min/1.73m² e <15mL/min/1.73m², respectivamente [23].

Técnicas Moleculares

As técnicas moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) da Universidade Estadual do Maranhão, Campus Caxias/MA, compreendendo extração de DNA, Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) e sequenciamento genético.

As amostras de sangue destinadas a extração do material genético foram coletadas em tubos com anticoagulante de EDTA, e armazenadas em freezer -80°C até o momento do processamento. A extração do DNA foi realizada a partir de sangue

total com o kit PureLink® Genomic DNA da ThermoFisher, conforme as instruções do fabricante (**material suplementar 1**).

As amplificações gênicas foram realizadas via técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR), com os primers específicos, sendo estes: eNOS forward 5'-AAGGCAGGAGACAGTGGATGGA-3' e reverse 5'-CCCAGTCAATCCCTTTGGTGCTCA-3' [24]. As reações foram realizadas em volume final de 25 µL, contendo: 4µl de DNTPs (1,25 M), 2,75 µl de solução tampão e MgCl₂ (10X), 2µl de DNA, 0,25 µl de cada primer (200ng/ µL), 0,2 µl da enzima Taq polimerase (5U/µL) e 15,55 µl de H₂O.

A PCR compreendeu uma etapa inicial a 96°C durante 2 minutos para a desnaturação do DNA e consequente ativação da enzima polimerase, seguida por 35 ciclos que compreendeu as etapas de desnaturação, anelamento dos primers e extensão do fragmento nas seguintes condições: 96°C por 30 segundos (desnaturação), 62°C por 60 segundos (anelamento) e 72°C por 1 minuto (extensão). Após os 35 ciclos, foi seguido de uma extensão final a 72°C durante 5 minutos. O produto da PCR foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 2% para verificar a positividade da técnica, em seguida os positivos foram purificados com a enzima Exosap-IT conforme fabricante e submetidos à reação de sequenciamento de DNA segundo o método de Sanger e colaboradores [25].

As reações de sequenciamento foram realizadas no equipamento ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante e otimizado no laboratório, utilizando o kit *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing*.

216 **Análise e processamento de dados**

217 Para a análise estatística referente a epidemiologia foram utilizado o software
218 SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences, Inc., Chicago, IL, USA*) versão
219 25.0 [26]. Os dados foram tratados por meio de procedimentos descritivos (média,
220 mediana e desvio padrão, frequência e percentual). O teste *Kolmogorov-Smirnov* foi
221 usado para verificar a normalidade dos dados.

222 Foi utilizado o teste *t* de *Student* e teste ANOVA *One-Way*, para analisar as
223 diferenças nos agrupamentos entre as variáveis com distribuição normal. Teste de
224 *Mann-Whitney* para as variáveis que não apresentam distribuição normal dos dados.
225 A curva ROC para avaliar as variáveis preditoras de SM. Os resultados foram
226 considerados estatisticamente significativos para $p < 0,05$.

227 Para a análise genética, as sequências geradas foram plotadas no Genbank
228 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) a fim de verificar a similaridade e alinhadas no
229 Software Bioedit para verificar presença/ausência do polimorfismo (indivíduos
230 homozigotos normal, homozigotos mutados e heterozigotos).

231

232 **Aspectos Éticos**

233 Este projeto é parte integrante de um projeto guarda-chuva intitulado “*Predição*
234 *da Doença Renal Crônica Utilizando Redes Neurais Artificiais*” o qual possui
235 aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão
236 CAAE: 67030517.5.0000.5087, segundo parecer 4.721.142. O estudo foi conduzido
237 de acordo com a resolução Conselho Nacional de Saúde (CNS) nº 466/2012.

238

239

240

Resultados

A amostra foi formada por 95 participantes, dos quais 61,05% (n=58) apresentavam doença renal crônica e 38,95% (n=37) eram hígidos com mediana de faixa etária em 54 anos (42-61,5) e 24 anos (21,5 - 27,5), respectivamente. Na Tabela 1, é apresentada a caracterização das variáveis sociodemográficas e antropométricas descritas em mediana (valor mínimo - valor máximo) e média $\pm$ desvio-padrão.

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica, antropométrica e de composição corporal dos pacientes renais e hígido (n=95).

Variável	Grupo Controle	Grupo Renal	p-valor
Idade	24 (21,5 - 27,5)	54 (42-61,5)	<0,001
CC	82 (78,25-87,5)	90,5 (80,37-98)	0,006
CQ	98,2 (95-103)	101 (95-108)	0,173
RCE	0,48 (0,44-0,51)	0,57 (0,51-0,61)	<0,001
RCQ	0,84 (0,80-0,87)	0,88 (0,84-0,92)	0,001
Cpes	36,5 (34,95-38,50)	35 (32-37)	0,028
Ângulo de fase	7,91 (6,58-8,63)	6,97 (6,47-7,81)	0,165
%CG	20,62 (16,01-23,46)	34,22 (26,67-41,14)	<0,001
Peso	74,15 $\pm$ 9,69	68,35 $\pm$ 13,89	0,029
Altura	1,72 $\pm$ 0,07	1,57 $\pm$ 0,07	<0,001
IMC	24,90 $\pm$ 3,57	27,44 $\pm$ 5,08	0,009
CB	31,46 $\pm$ 3,14	29,47 $\pm$ 3,98	0,012
Cpant	37,10 $\pm$ 2,57	35,21 $\pm$ 3,84	0,010

Abreviações: CC - circunferência da cintura; CQ- circunferência do quadril; RCE - Relação cintura estatura; RCQ - Relação cintura quadril; CP- circunferência do pescoço; % GC - percentual de gordura corporal; IMC - índice de massa corporal; CB - circunferência do braço; Cpant - circunferência da panturrilha; *Teste de Mann-Whitney; ^aValores descritos como mediana (valor mínimo - valor máximo).
*Teste de T; ^aValores descritos como média $\pm$ desvio-padrão.

A Tabela 2 apresenta características do perfil hemodinâmico e bioquímicas da amostra estratificada pelo grupo renal e controle. Nesta tabela foi possível observar que os doentes renais apresentaram valores significativamente maior de pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, glicemia, triglicerídeos, LDL e menor de creatinina e HDL, em relação ao grupo controle.

Tabela 2. Perfil hemodinâmico e bioquímico dos pacientes renais e hígido (n=95).

Variável	Grupo Controle	Grupo Renal	p-valor
PAS	123 (115,5-132)	131 (119,75-138,25)	0,034
PAD	74,54±10,28	82,49±12,45	0,002
Colesterol Total	119,97 (103,15 -131,35)	133,45 (111,81-162,56)	0,010
Creatinina	1,23 (1,12 - 1,45)	1,07 (0,93 -1,42)	0,029
Glicemia	86,51 (74,95 - 90,19)	94,00 (82,94 -103,04)	0,001
Triglicerídeos	75 (56,69 - 108,34)	144,48 (100,44 - 212,59)	<0,001
Ureia	34,29 (31,12 - 40,21)	33 (26,97- 46,00)	0,880
Ácido úrico	6,06 (2,69 - 7,24)	4,45 (3,41-5,61)	0,072
LDL	57 (46,50 - 71,50)	72,87 (52,42-100,43)	0,019
HDL	42,98 (32,98 - 45,45)	31,85 (24,85-42,07)	0,003

Abreviações: PAS - pressão arterial sistólica; PAD - pressão arterial diastólica; HDL - high density lipoprotein; LDL - low density lipoprotein; *Teste de Mann-Whitney; ^aValores descritos como mediana (valor mínimo - valor máximo). *Teste de T; ^aValores descritos como média ±desvio-padrão.

A Tabela 3 apresenta a prevalência de parâmetros sociodemográficos e clínicos estratificada por grupo. A análise dos dados mostrou prevalência significativa do sexo feminino no grupo renal. Quanto as variáveis bioquímicas, a glicemia, triglicerídeos, HDL e LDL apresentaram maior prevalência de alterações no grupo renal em relação ao grupo controle. Bem como nas demais variáveis clínicas como pressão arterial, IMC, gordura corporal (%), circunferência da cintura e presença de risco para síndrome metabólica também foi possível constatar maior prevalência de alterações no perfil cardiometabólico no grupo renal.

Tabela 3. Prevalência de parâmetros sociodemográficos e clínicos estratificada por grupo (n=95).

Variável	Grupo Controle	Grupo Renal	p-valor
Cor			
Branco	24,3% (09)	20,7% (12)	0,677
Não branco	75,7% (28)	79,3% (46)	
Sexo			
Feminino	16,2% (06)	70,7% (41)	<0,001
Masculino	83,8% (31)	29,3% (17)	

Colesterol Total			
Normal	97,3% (36)	86,2% (50)	0,072
Alterado	2,7% (01)	13,8% (08)	
Glicemia			
Normal	94,6% (35)	67,2% (39)	0,002
Alterado	5,4% (02)	32,8% (19)	
Triglicerídeos			
Normal	89,2% (33)	53,4% (31)	<0,001
Alterado	10,8% (04)	46,6% (27)	
HDL			
Normal	56,8% (21)	29,5% (15)	0,002
Alterado	43,2% (16)	74,1% (43)	
LDL			
Normal	91,9% (34)	74,1% (43)	0,031
Alterado	8,1% (03)	25,9% (15)	
Pressão Arterial			
Normal	91,9% (34)	60,3% (35)	0,001
Alterado	8,1% (03)	39,7% (23)	
IMC			
Eutrófico	59,5% (22)	32,8% (19)	0,003
Excesso de peso	40,5% (15)	67,30% (39)	
%CG			
Normal	89,2% (33)	29,3% (17)	<0,001
Alterado	10,8% (04)	70,7% (41)	
CC			
Normal	81,1% (30)	48,3% (28)	0,001
Alterado	18,9% (07)	51,7% (30)	
RCE			
Normal	27,0% (10)	84,5% (49)	<0,001
Alterado	73% (27)	15,5% (09)	
Síndrome Metabólica			
Ausência	97,3% (36)	77,6% (45)	0,008
Presença	2,7% (01)	22,4% (13)	

Abreviações: HDL - high density lipoprotein; LDL - low density lipoprotein; IMC - índice de massa corporal; % GC - percentual de gordura corporal; CC - circunferência da cintura; RCE - Relação cintura estatura *Teste Qui-quadrado; ^aValores descritos em percentual (%) e frequência (n).

273
274
275
276

277 A tabela 4 aponta a avaliação dos parâmetros antropométricos, bioquímicos e
278 pressóricos por estágio da DRC, conforme valores de média e desvio padrão. Foi
279 possível observar diferença significativa entre as variáveis pressão arterial sistólica,
280 glicemia em jejum e triglicerídeos entre os estágios da patologia, mostrando variação
281 destes parâmetros no perfil cardiometabólico do grupo renal.

Ademais, foi possível observar também que grande parte da amostra se encontra nos estágios G2 e G3a respectivamente, sendo estes, considerados portadores de doença renal em estágio conservador. O tratamento conservador consiste em controlar os fatores de risco para a progressão da DRC, preservar a TFG, bem como para os eventos cardiovasculares e mortalidade. Quanto à redução da TFG com a progressão dos estágios, tal resultado apresentou-se conforme previsto devido ser uma característica inerente da DRC (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização sociodemográfica, antropométrica, bioquímica e hemodinâmica da amostra estratificada por estágio da DRC (n=58).

Variáveis	Estágios DRC				p-valor*
	2	3a	3b	4	
	(n =34)	(n=15)	(n=07)	(n=02)	
Idade (anos)	51,32 ±12,24	50,20 ± 14,57	59,29 ± 7,01	48,00 ± 8,48	0,394
Peso (kg)	69,64 ±15,97	66,90 ± 13,20	63,49 ± 9,59	74,25 ± 13,08	0,654
Altura (m)	1,57 ± 0,08	1,57 ± 0,60	1,55 ± 0,09	1,60 ± 0,00	0,877
IMC (kg/m²)	27,84 ± 5,53	26,86 ± 4,68	25,98 ± 3,76	29,00 ± 5,11	0,768
CB (cm)	29,82 ± 3,77	29,86 ± 4,61	27,14 ± 3,63	28,75 ± 3,18	0,420
CC (cm)	89,95 ± 11,87	88,77 ± 11,26	87,32 ± 10,38	90,50 ± 13,43	0,947
RCE (cm)	0,57 ± 0,06	0,56 ± 0,06	0,56 ± 0,06	0,57 ± 0,06	0,989
C. Pesc (cm)	35,55 ± 4,36	34,70 ± 3,90	34,07 ± 2,65	36,00 ± 0,00	0,777
C.Pant (cm)	35,66 ± 3,68	35,30 ± 4,39	33,42 ± 3,72	33,00 ± 1,41	0,459
Ângulo de Fase	7,57 ± 2,12	7,44 ± 1,62	8,54 ± 1,92	7,54 ± 0,24	0,685
%CG	35,21 ± 9,90	31,22 ± 9,29	30,84 ± 9,15	33,53 ± 14,00	0,506
PAS (mmHg)	124,71±14,57	131,60 ± 17,33	137,43±15,55	179,50 ± 3,53	<0,001
PAD (mmHg)	80,35 ± 11,52	86,36 ± 12,11	80,00 ± 12,43	98,50 ± 23,33	0,107
Col. total (mg/dL)	145,30±39,30	130,99 ± 50,93	139,01±27,63	139,69 ± 7,27	0,738
GLI (mg/dL)	98,21 ± 26,82	91,35 ± 18,95	119,76±24,58	129,74 ±53,65	0,042
TRIG (mg/dL)	159,44±72,74	145,97 ± 64,05	175,86±95,15	315,69± 41,32	0,028
HDL (mg/dL)	33,57 ± 13,54	37,36 ± 13,18	33,09 ± 17,83	26,16 ± 8,50	0,672

NÃO HDL (mg/dL)	111,73±38,23	93,62 ± 43,56	105,91±21,23	113,53 ± 1,23	0,490
LDL (mg/dL)	81,50 ± 35,80	78,33 ± 37,07	80,79 ± 22,99	50,00 ± 7,07	0,663
TFG	75,08 ± 8,94	53,71 ± 4,73	38,62 ± 2,84	21,00 ± 3,53	<0,001
AU (mg/dL)	5,04 ± 6,89	5,25 ± 1,40	5,51 ± 1,66	5,82 ± 0,12	0,994

Abreviações: DRC- Doença Renal Crônica; CB- circunferência do Braço; CC- circunferência da cintura; CB- Circunferência da Braço; CPant- Circunferência da Panturrilha; m- metro; Kg- quilogramas; cm – centímetro; % -percentual; GC- gordura corporal; PAS- Pressão arterial sistólica; PAD- Pressão arterial diastólica; Col - colesterol; GLI - glicemia; TRIG - triglicerídeos; HDL- high density lipoprotein; NÃO HDL- não high density lipoprotein ; LDL- low density lipoprotein; TFG-Taxa de Filtração Glomerular; AU - ácido úrico. *Teste ANOVA One-Way (p<0,05); Valores são apresentados como média ± desvio padrão;

Na avaliação dos preditores não invasivos de SM foi utilizado a Curva ROC, destacando-se a relação cintura-estatura (AUCROC=0,85), índice de massa corporal (AUCROC=0,80) e o percentual de gordura corporal (AUCROC=0,80), como melhores indicadores nos grupos renal e hígido (Tabela 5).

Tabela 5. Preditores de Síndrome Metabólica não invasivos.

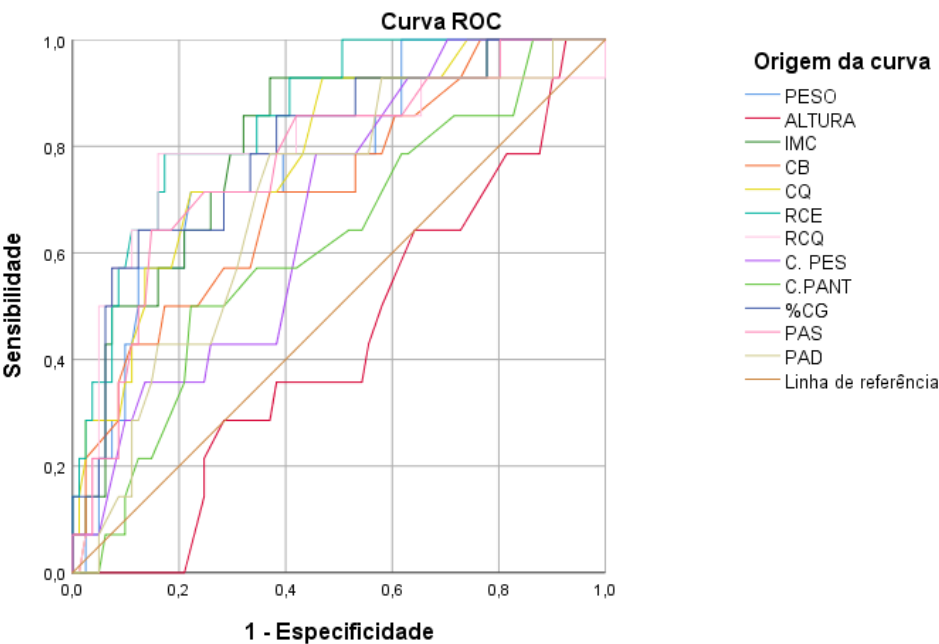
Variáveis	AUROC (IC 95%)	p-valor
Peso	0,76 (0,64-0,89)	0,001
Altura	0,43 (0,28-0,58)	0,431
Índice de massa corporal	0,80 (0,68-0,92)	<0,001
Circunferência do braço	0,71 (0,57-0,85)	0,011
Circunferência do quadril	0,78 (0,66-0,91)	0,001
Relação cintura-estatura	0,85 (0,76-0,95)	<0,001
Relação cintura-quadril	0,79 (0,64-0,94)	<0,001
Circunferência do pescoço	0,67 (0,54-0,80)	0,037
Circunferência da panturrilha	0,61 (0,46-0,77)	0,164
Percentual de gordura corporal	0,80 (0,67-0,92)	<0,001
Pressão Arterial Sistólica	0,77 (0,63-0,90)	0,001
Pressão Arterial Diastólica	0,69 (0,55-0,83)	0,019

es: IC 95% - intervalo de confiança; * Área sob a curva AUROC

A Figura 1 demonstra uma representação gráfica da curva ROC da tabela acima, geradas por plotagem de sensibilidade (eixo y) versus especificidade (eixo x). É possível constatar que a altura não foi considerada bom preditor. Visto que para um teste de diagnóstico ser considerado preciso e tenha melhor desempenho, é necessário existir uma curva mais próxima do canto superior esquerdo, acima da linha de referência, ou seja, mais próxima de 1 [23;24].

310

Figura 1 - Área sob a Curva Roc.



311

312

Fonte: Autor, 2023.

313

314 Após o tratamento de todas as amostras foi notada a presença de homozigoto
315 normal (não polimórfico) em ambos os grupos, conforme a tabela 6. Do total de 94
316 amostras, 65 pacientes foram considerados homozigotos normais, um paciente
317 homozigoto mutado e 28 pacientes considerados heterozigotos. Desta forma, tais
318 resultados evidenciam a presença do polimorfismo eNOS Glu298Asp em apenas um
319 1 paciente, sendo este do grupo controle, ou seja, que não possui DRC.

320

Tabela 6 - Frequência para o polimorfismo eNOS 894G>T nos pacientes renais e hígido (n=94).

Classificação	Grupo	
	Renal	Controle
Homozigoto normal	68,97% (40)	72,22% (26)
Heterozigoto	31,03% (18)	25,00% (09)
Homozigoto polimórfico	00% (00)	2,78% (01)
Total	100% (58)	100% (36)

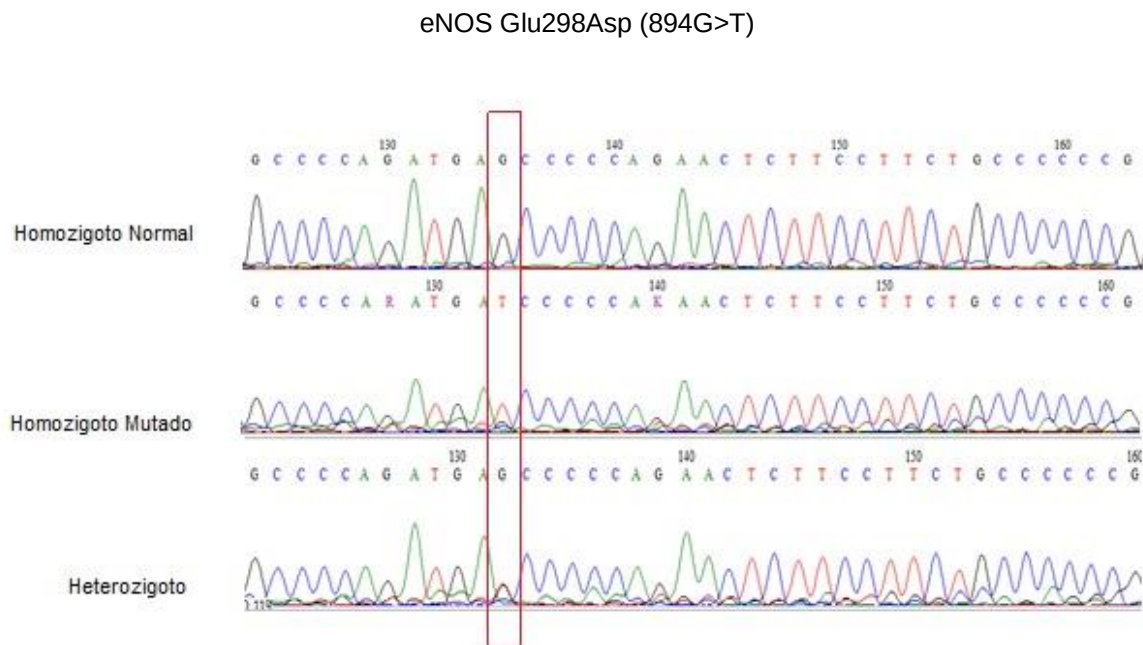
*Valores descritos em percentual (%) e frequência (n).

321

322

A presença do polimorfismo foi evidenciada através da alteração da base guanina (G) por timina (T) conforme sítio destacada na imagem abaixo (figura 2). Esta mutação afeta a expressão e atividade do gene e como consequência resulta em uma menor produção endógena de óxido nítrico, que por sua vez pode modificar a suscetibilidade à distúrbios cardiometabólicos e suas complicações [12;14].

Figura 2 - Eletroferograma de sequenciamento automático da região polimórfica do eNOS 894G>T de três pacientes homozigoto normal, homozigoto mutado e heterozigoto, respectivamente.



Discussão

A doença renal crônica (DRC) apresenta crescente incidência nas últimas décadas devido ao aumento da prevalência dos fatores etiológicos mais frequentes na DR, dentre as quais podem ser destacados, a hipertensão arterial e o diabetes mellitus (DM) [29]. O presente estudo fornece informações que corroboram a importância do diagnóstico precoce da doença e acompanhamento desde os estágios iniciais, a fim de detectar riscos ou alterações bioquímicas já instalados e comumente observadas na DRC.

Quanto ao gênero, assim como apresentado no presente trabalho, estudos recentes relataram maior predominância de mulheres na população renal estudada, bem como maior prevalência em indivíduos de meia idade [27; 28; 30; 31; 32; 33] dado que contrasta com as informações de pacientes em diálise onde predomina o gênero masculino [34] e no estudo de Gorostini e colaboradores com população adulta espanhola [35]. Este fato pode ser justificado pelo público feminino ter maior atenção com a sua saúde [36].

O aumento da faixa etária dos pacientes renais também corrobora os achados do censo 2009-2018 [34] da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) ao apresentar maioria dos indivíduos entre 45-64 anos (41,5%). A idade é considerada um fator de risco para DRC, pois há um declínio biológico natural da TFG com o passar dos anos, espera-se diminuição progressiva de aproximadamente 8 mL/min/1,73 m² por década, associada à alta prevalência de fatores de risco de ordem patológica que contribuem para a perda da função renal [37;38].

Dados semelhantes, foram observados no estudo de Migdalis e colaboradores [39] em que foram encontrados médias de pressão arterial sistólica e frações lipídicas maiores no grupo renal, quando comparado ao grupo sem DRC, incluindo a menor média de HDL. O colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) é uma molécula conhecida por seu efeito cardioprotetor, importante mediador da função endotelial e na DRC, suas ações benéficas são amplamente diminuídas [40].

O metabolismo da glicose e a resistência à insulina na DRC são fatores complexos e podem ser mediados por diversos parâmetros, entre eles, a diminuição da resposta das células beta à glicose no sangue desde o estágio inicial da DRC e redução da depuração renal de insulina [41]. Além disso, Yun e colaboradores [42] relatam que pacientes com anormalidade metabólica possuem maior risco de

desfechos negativos renais em todos os estágios, destacando a importância do acompanhamento deste grupo específico.

Vale ressaltar que em portadores de DRC, alterações na fração lipídica são bastante observadas e consideradas fator agravante para DCV. Os triglicerídeos séricos elevados representam a anormalidade mais frequente no perfil lipídico de pacientes com DRC [40]. Shrestha e colaboradores [43] encontraram em seu estudo com pacientes renais crônicos prevalências semelhantes na fração lipídica como triglicerídeos (39,18%), HDL baixo (42,23%) e LDL elevado (35,96%). Cabe salientar que alterações no metabolismo da glicose associado a fatores, incluindo hipertrigliceridemia e baixo colesterol HDL, pode desempenhar um papel relevante na para o início e progressão da DRC [44].

Por se tratar de uma doença base para a incidência de DRC, a HAS é associada a um maior risco de redução da TFG pela ativação do sistema renina-angiotensina, induzindo assim disfunção endotelial e estresse oxidativo lesões renais. Além disso, a obesidade e a dislipidemia apresentam risco significativamente associados a um risco aumentado de doença renal nefrótica, dados que puderam ser evidenciados neste trabalho [45].

Na população renal, a mortalidade por DCV constitui a principal causa de óbito, dado que reforça a necessidade de rastreio para condições crônicas de saúde em todos os estágios da DRC [30]. A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovascular e sua prevalência neste trabalho foi de 22,4% ($p=0,008$) no grupo renal. Dados parecidos com os que foram encontrados por Moustakim e colaboradores [46] e Chen e colaboradores [47], 38% e 36,4%, respectivamente em estudos quando comparados população renal e não renal. Já no trabalho de Syukri e colaboradores [48] houve maior prevalência de SM com 50,2% e

seus componentes, o que pode ser justificado por terem sido participantes com insuficiência renal crônica. Diante do distúrbio do metabolismo da glicose e lipídios em pacientes com DRC, a incidência de SM nesta população é significativamente maior do que na população geral [49].

No presente estudo, observou-se a predominância dos estágios iniciais da doença (G2 e G3a), considerados em estágio conservador. Em consonância com essa predominância, Pereira e colaboradores [50] encontraram prevalência de portadores nos estágios iniciais (89,4%) em seu estudo epidemiológico realizado em Goiânia, GO. Estes dados corroboram a importância do acompanhamento de indivíduos em tratamento conservador, a fim de retardar a progressão da doença e controlar desfechos de saúde decorrentes da falência renal [51].

Quando considerado o perfil bioquímico e pressórico do grupo renal estratificado por estágio, foi possível observar que os pacientes apresentaram alterações gradativamente de acordo com o avanço do estágio renal. No último estágio apresentado (G4) foi possível perceber maiores alterações nas três variáveis discutidas, demonstrando o perfil das alterações cardiometabólicas como consequência da progressão renal. Ao observar tais dados, pode-se constatar também que o maior controle dos parâmetros bioquímicos e perfil hemodinâmico nos grupos em estágio conservador, podem ser justificados pelo acompanhamento deste público em centros de referência, onde é reforçado a adesão ao tratamento e a reflexão sobre a centralidade do seu empenho na condução da terapêutica e, desta forma, obtendo melhores resultados clínicos [52].

As modificações no perfil lipídico destacam-se desde os estágios iniciais e podem ser consideradas como fatores envolvidos na patogênese da progressão da DRC [53]. O que é evidenciando também no estudo de Ferro e colaboradores [54] que

citam característica em portadores de DRC, a partir do estágio 3^a, o decréscimo no nível sérico de HDL e aumento dos triglicerídeos.

No presente estudo, destacam-se a relação cintura-estatura, índice de massa corporal e %GC como melhores preditores não invasivos de SM, respectivamente. Parâmetros antropométricos são considerados relevantes para a prática clínica na avaliação de fatores de risco cardiometabólico [55] e ratificados na literatura como bons preditores para SM [56]. A incidência de SM está aumentando a nível mundial com o contínuo crescimento da prevalência de obesidade. Portanto, ressalta-se a necessidade da detecção precoce para evitar resultados adversos [57]. Nesse contexto, a utilização de métodos de triagem de baixo custo podem facilitar o diagnóstico e otimizar o atendimento pelos profissionais de saúde.

Os dados da presente pesquisa são corroborados a outros estudos que apontam a RCE como melhor preditor de SM quando comparado com outras medidas antropométricas [55;56;57] e em diferentes grupos étnicos [56; 58] principalmente, por ser um indicador de obesidade abdominal de alta confiança. Kawamoto e colaboradores [58] mostrou que além da RCE, o IMC também foi útil para prever a SM em população idosa do Japão. O IMC é uma medida antropométrica muito utilizada na clínica e fortemente relacionada à adiposidade corporal e foi considerado um bom parâmetro em adolescentes [47] e adultos [59] na predição do risco de SM e seus componentes.

A obesidade está associada a uma série de fatores de risco de doenças cardiovasculares (DCV), incluindo a síndrome metabólica. Dentre estes componentes, a obesidade abdominal, representa a manifestação mais prevalente desta condição e de importância central no diagnóstico clínico. A gordura corporal elevada está relacionada à síndrome metabólica em alguns grupos étnicos [60] e corroborando os

achados do presente estudo, a pesquisa de Shukohifar e colaboradores [61] mostrou que o %GC teve bom desempenho na predição de fatores de risco para SM, podendo ser incluída nas etapas de triagem em pacientes diabéticos. Apesar deste parâmetro ter apresentado um bom desempenho para validar seu uso na triagem, sua utilização apresenta a necessidade de um equipamento de alto custo. Portanto, sugere-se que na prática clínica sejam realizadas as medidas antropométricas RCE e IMC para complementar a triagem de SM.

Apesar de não ter sido possível incluir associação entre os parâmetros cardiometabólicos com o polimorfismo do gene eNOS Glu298Asp neste trabalho, estudos genéticos associados à DRC podem ajudar a prever a identificação e evolução dessa doença. Zhou, XU e YIN [62] realizaram uma meta-análise para investigar a associação entre o polimorfismo Glu298Asp e a suscetibilidade à Nefropatia Diabética (ND) e relataram que o alelo T foi associado à suscetibilidade da doença em populações gerais, em asiáticos e em caucasianos. Entretanto, a associação não foi encontrada para a população brasileira.

Outro estudo mostrou uma associação entre a presença do alelo polimórfico T e a susceptibilidade ao desenvolvimento de insuficiência renal aguda (IRA) em várias populações, especialmente populações asiáticas. Nesta mesma metanálise, foi encontrado a frequência do alelo T na população brasileira de 33,50% e 30,00% no grupo controle [63].

Ilhan e colaboradores [64] não encontraram nenhuma associação entre o polimorfismo Glu298Asp no gene eNOS e doenças renais em estágio terminal em diferentes tratamentos dialíticos. Assim como Joshaghani e colaboradores [65] com a população do norte do Irã que mostraram que dentre as variantes estudadas no gene NOS, a G894T não fora associada ao risco de doença arterial coronariana (DAC).

Nos achados El-Baz e colaboradores [66], egípcios homozigotos pelo alelo Asp tiveram risco aumentado de doença hepática gordurosa não alcoólica, que é uma das manifestações da SM [66]. Dados que pode estabelecer relação com o de Fattakhov e colaboradores [67], ao considerar que o polimorfismo pode ser um marcador genético de predisposição para SM em populações eslavas. Neste estudo, o genótipo Asp/Asp foi associado a maior risco de SM com o aumento do nível sérico de endotelina-1, importante vasoconstritor endógeno relacionado à disfunção endotelial e hemodinâmico.

Este polimorfismo Glu298Asp tem sido associado principalmente a patologias cardiovasculares, como doença arterial coronariana, aterosclerose, espasmo coronariano induzido pela acetilcolina e hipertensão arterial. Bem como doença de Alzheimer, hipertensão induzida pela gravidez, câncer vesical e da próstata e nefropatia diabética [14]. Entretanto, mais investigações de associação de caso-controle em populações maiores e estratificadas são necessárias para esclarecer ainda mais o papel desse polimorfismo no gene eNOS Glu298Asp na suscetibilidade à SM e DRC nos estágios pré-diálise.

O rastreamento da SM é relevante para distinguir pacientes em risco cardiovascular, principalmente quando se trata de pacientes renais. Esses indivíduos precisam de intervenções mais intensivas no estilo de vida em um estágio inicial para retardar a progressão das doenças cardiovasculares e lesão renal e, consequentemente, desfechos indesejados [56].

Dentre as limitações inerentes ao estudo, incluem o uso de dados de um único ambulatório e o número relativamente pequeno de indivíduos analisados, por isso, sugere-se a continuidade da realização de estudos com a população renal.

492 **Conclusão**

493 Observou-se prevalência para o risco de síndrome metabólica, evidenciando
494 maior risco cardiometabólico no grupo renal. Foi evidenciado a presença de um único
495 indivíduo com o polimorfismo Glu298Asp, entretanto não foi possível associar sua
496 presença com o risco cardiometabólico e variáveis antropométricas e bioquímicas. A
497 relação cintura-estatura e índice de massa corporal podem ser utilizados na triagem
498 de pacientes com SM como métodos não invasivos e de baixo custo.

499 Logo, a avaliação precoce de fatores de risco cardiometabólico em todo
500 estadiamento da DRC é extremamente relevante. Esses indivíduos precisam de
501 intervenções mais intensivas no estilo de vida em um estágio inicial para retardar a
502 progressão das doenças cardiovasculares e lesão renal e, consequentemente,
503 desfechos indesejados.

504 Tais achados reforçam a necessidade de ampliação do diagnóstico e do
505 fortalecimento de medidas de saúde pública/atenção primária no Sistema Único de
506 Saúde (SUS) para detecção precoce e prevenção de progressão de eventos
507 cardiovasculares na população renal.

508

509 **Reconhecimentos**

510 Agradecimento ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) da
511 Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), campus Caxias e Laboratório de
512 Aquisição e Processamento de Sinais (LAPS) UEMA, campus São Luís e Laboratório
513 de Processamento da Informação Biológica (PIB) da Universidade Federal do
514 Maranhão (UFMA) por todo aparato fornecido para o desenvolvimento dessa
515 pesquisa. Ademais à Fundação de Amparo à Pesquisa e o Desenvolvimento Científico
516 e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pela concessão da bolsa e fomento.

517 **Contribuições dos autores**

518 N.A.C.M: Dados coletados, entrevistas presenciais realizadas, realizou exames físicos
519 dos pacientes. N.A.C.M. e M.C.B: Realizaram os testes moleculares e redigiram o
520 manuscrito. E.E.C.S e N.P.S.S.: Realizaram as análises e procedimentos estatísticos.
521 M.C.B, L. M. A. A, E. C. R. L. C, A. K. D. B. F. e E. C. F.: Revisaram o manuscrito.
522 Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

523

524 **Financiamento**

525 Fundação de Amparo à Pesquisa e o Desenvolvimento Científico e Tecnológico do
526 Maranhão (FAPEMA).

527

528 **Declarações**

529 **Aprovação ética e consentimento para participar**

530 - A aprovação do comitê de ética foi recebida para este estudo do Comitê de Ética e
531 Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão CAAE: 67030517.5.0000.5087 e
532 parecer 4.721.142.

533 - Os formulários de consentimento informado para participação foram assinados por
534 todos os pacientes (amostra formulário está disponível na seção de arquivos
535 relacionados).

536

537 **Consentimento para publicação**

538 Os autores concordaram com a publicação deste artigo na *BMC Nephrology*..

539

540 **Interesses competitivos**

541 “Os autores declaram não ter interesses conflitantes”.

Detalhes dos autores

¹Programa de Pós-graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde. Universidade Estadual do Maranhão – Campus Caxias, MA, Brasil. ²Diretoria de Pós-graduação e Pesquisa. Faculdade Laboro. São Luís, MA, Brasil. ³Departamento de Engenharia de Elétrica, Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, Brasil. ⁴Centro de Prevenção de Doenças Renais, Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, Brasil. ⁵Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Computação e Sistemas, Universidade Estadual do Maranhão. São Luís, MA, Brasil.

Correspondência Naruna Aritana Costa Melo: narunaritana@gmail.com

Referências

1. Stevens PE, Adeera L. Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. *Annals of Internal Medicine*. 2013;158:825.
2. Aseneh JB, Kemah BLA, Mabouna S, Njang ME, Ekane DSM, Agbor VN. Chronic kidney disease in Cameroon: a scoping review. *BMC Nephrology*. 2020;21.
3. Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management. *JAMA*. 2019;322:1294.
4. Glasscock RJ, Warnock DG, Delanaye P. The global burden of chronic kidney disease: estimates, variability and pitfalls. *Nature Reviews Nephrology*. 2016;13:104–14.
5. Neves PDM de M, Sesso R de CC, Thomé FS, Lugon JR, Nascimento MM. Brazilian dialysis survey 2019. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2021;43:217–27.
6. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJL, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: Epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet*. 2013;382:339–52.
7. Ferrara D, Montecucco F, Dallegri F, Carbone F. Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases. *J Cell Physiol*. 2019;234:21630–41.
8. Skalsky K, Shiyovich A, Steinmetz T, Kornowski R. Chronic Renal Failure and Cardiovascular Disease: A Comprehensive Appraisal. *J Clin Med*. 2022;11.
9. Ammirati, AL. Chronic Kidney Disease. *Revista da Associação Médica Brasileira*. (1992). 2020;26:3-9.
10. Nakashima A, Kato K, Ohkido I, Yokoo T. Role and treatment of insulin resistance in patients with chronic kidney disease: A Review. *Nutrients*. 2021;13:4349.

11. Xie K, Bao L, Jiang X, Ye Z, Bing J, Dong Y, et al. The association of metabolic syndrome components and chronic kidney disease in patients with hypertension. *Lipids Health Dis.* 2019;18:1–6.
12. Chand S, Chue CD, Edwards NC, et al. Endothelial nitric oxide synthase single nucleotide polymorphism and left ventricular function in early chronic kidney disease. *PLoS One.* 2015;10(1):e0116160.
13. Oliveira-Paula GHO, Lacchini R, Tanos-Santos JE. Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases. *Nitric Oxide.* 2017; 63:39-51.
14. Medina AM, Zubero EE, Jiménez MAA, Barragan SAA, García CAL, Ramos JJG, Gutierrez JFS *et al.* Polimorfismos NOS3 e Insuficiência Renal Crônica. *Braz. J. Nephrol.* 2018; 40(3) 273-277.
15. Moraes LL, dos Santos ALG, Dias LPP, Oliveira D de A, Mafra D, Martins ICV da S. Identification of cardiovascular risk by triglyceride/HDL- cholesterol ratio in patients with chronic renal disease in hemodialysis. *Sci Med (Porto Alegre).* 2017;27-3.
16. Miki Takakura A, Roberto Pereira D, Assis da Silva F, Augusto Pazoti M, Luiz de Almeida L, Molina Sapia H. Use of machine learning in the medical diagnosis of pathologies. *Colloq Exactarum.* 2018;10(1):78–89.
17. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, Ill.: Human Kinetics Books; 1991.
18. World Health Organization. WHO. Noncommunicable Diseases Progress Monitor 2015. Who. 2015;232.
19. Brazilian Association for the Study of Obesity. Brazilian guidelines on obesity 2016. VI Diretrizes Bras Obesidade. 2016; 7–186.
20. Ashwell M, Hsieh SD. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 2005;56:303–7.
21. Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa AD de M, Machado CA, et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116(3):516-658.
22. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y (Lucy), Castro AF, Feldman HI, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Annals of Internal Medicine.* 2009;150:604.
23. National Kidney Foundation. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Inter Suppl.* 2013;3(1):1-150. Disponível em: <http://goo.gl/gZcgU5>. Acesso em: 5 dez. 2021.
24. Leonardo DP, Albuquerque DM, Lanaro C, Baptista LC, Cecatti JG, Surita FG, et al. Association of Nitric Oxide Synthase and Matrix Metalloprotease Single Nucleotide Polymorphisms with Preeclampsia and Its Complications. *PLoS ONE.* 2015;10(8): e0136693.

25. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977;74:5463–7
26. Statistics IS. IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp. Armonk, NY. 2010.
27. Amaral TLM, Amaral C de A, Vasconcellos MTL de, Monteiro GTR. Chronic kidney disease in adults in Rio Branco, Acre: population-based survey. *Science & Public Health*. 2021; 26:339–50
28. Comini L de O, de Oliveira LC, Borges LD, Dias HH, Batistelli CRS, da Silva LS, et al. Individual and Combined Components of Metabolic Syndrome with Chronic Kidney Disease in Individuals with Hypertension and/or Diabetes Mellitus Accompanied by Primary Health Care. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2020;13:71–80.
29. Cheng H-T, Xu X, Lim PS, Hung K-Y. Worldwide Epidemiology of Diabetes-Related End-Stage Renal Disease, 2000–2015. *Diabetes Care*. 2020;44:89–97.
30. Vanelli CP, Paula RB, Costa MB, Bastos MG, Miranda LSP, Colugnati FAB. Chronic kidney disease: susceptibility in a representative population-based sample. *Rev Saude Publica*. 2018;23(52):68.
31. Gouvêa ECDP, Szwarcwald CL, Damacena GN, Moura L. Self-report of medical diagnosis of chronic kidney disease: prevalence and characteristics in the Brazilian adult population, National Health Survey 2013 and 2019. *Epidemiol Serv Saude*. 2022;31(spe1):e2021385.
32. Aguiar LK de, Ladeira RM, Machado IE, Bernal RTI, Moura L de, Malta DC. Fatores associados à doença renal crônica: inquérito epidemiológico da Pesquisa Nacional de Saúde. *Rev Bras de Epidemiol [Internet]*. 2020;23(Rev. bras. epidemiol., 2020 23):e200101. Available from: <https://doi.org/10.1590/1980-549720200101>.
33. Duan JY, Duan GC, Wang CJ, Liu DW, Qiao YJ, Pan SK, Jiang DK, Liu Y, Zhao ZH, Liang LL, Tian F, Liu ZS. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in a central Chinese urban population: a cross-sectional survey. *BMC Nephrol*. 2020;21(1):115.
34. Neves PDM de M, Sesso R de CC, Thomé FS, Lugon JR, Nasicmento MM. Brazilian Dialysis Census: analysis of data from the 2009-2018 decade. *J Bras Nefrol*. 2020;42:191–200.
35. Gorostidi M, Sánchez-Martínez M, Ruilope LM, Graciani A, de la Cruz JJ, Santamaría R, Del Pino MD, Guallar-Castillón P, de Álvaro F, Rodríguez-Artalejo F, Banegas JR. Chronic kidney disease in Spain: Prevalence and impact of accumulation of cardiovascular risk factors. *Nefrologia (Engl Ed)*. 2018;38(6):606-615.
36. Rembold, S. M. Santos, D. L. S. Vieira, G. B., Barros, M. S. Lugon, J. R. Demographic profile of individuals with chronic renal disease from a multidisciplinary outpatient clinic of a university teaching hospital. *Acta Paul Enferm*. 2009;22(special issue1):501-4.
- 37 Young BA, Katz R, Boulware LE, Kestenbaum B, de Boer IH, Wang W, et al. Risk factors for rapid kidney function decline among african americans: The Jackson Heart Study (JHS). *American Journal of Kidney Diseases*. 2016;68:229–39.

38. Tuğcu M, Barutçu Ataş D. Chronic kidney disease progression in aged patients. *International Urology and Nephrology*. 2021;53:2619–25.
39. Migdalis IN, Ioannidis IM, Papanas N, Raptis AE, Sotiropoulos AE, Dimitriadis GD, on behalf of the Hellenic Diabetic Nephropathy Study (HDNS). Hypertriglyceridemia and Other Risk Factors of Chronic Kidney Disease in Type 2 Diabetes: A Hospital-Based Clinic Population in Greece. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(11):3224.
40. Theofilis P, Vordoni A, Koukoulaki M, Vlachopoulos G, Kalaitzidis RG. Dyslipidemia in Chronic Kidney Disease: contemporary concepts and future therapeutic perspectives. *American J. Nephrol*. 2021;52:693–701.
41. Rahhal MN, Gharaibeh NE, Rahimi L, Ismail-Beigi F. Disturbances in insulin-glucose metabolism in patients with advanced renal disease with and without Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2019;104:4949–66.
42. Yun H-R, Kim H, Park JT, Chang TI, Yoo T-H, Kang S-W, et al. Obesity, metabolic abnormality, and progression of CKD. *AJKD*. 2018;72:400–10.
43. Shrestha DB, Budhathoki P, Sedhai YR, Baniya R, Gaire S, Adhikari Y, Marasini A, Bhandari S, Sedhain A. Prevalence of chronic kidney disease, its risk factors and outcome in Nepal: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Nepal Health Res Counc*. 2021;19(2):230-238.
44. Russo G, Piscitelli P, Giandalia A, Viazzi F, Pontremoli R, Fioretto P, Cosmo, de S. Atherogenic dyslipidemia and diabetic nephropathy. *J Nephrol*. 2020; 33:1001-1008
45. Duan JY, Duan GC, Wang CJ, Liu DW, Qiao YJ, Pan SK, Jiang DK, Liu Y, Zhao ZH, Liang LL, Tian F, Liu ZS. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in a central Chinese urban population: a cross-sectional survey. *BMC Nephrol*. 2020;21:115.
46. Moustakim R, Mziwira M, El Ayachi M, Belahsen R. Association of Metabolic Syndrome and Chronic Kidney Disease in Moroccan Adult Population. *Metab Syndr Relat Disord*. 2021;19(8):460-468.
47. Chen J, Kong X, Jia X, Li W, Wang Z, Cui M, Xu D. Association between metabolic syndrome and chronic kidney disease in a Chinese urban population. *Clin Chim Acta*. 2017;470:103-108.
48. Syukri M, Virnardo R, Salwani D, Abdullah, Sofyan H, Marthoenis. The prevalence and associated factors of metabolic syndrome among patients with end-stage renal failure undergoing hemodialysis in Indonesia. *Diabetes Metab Syndr*. 2020;14(6):2069-2072. doi: 10.1016/j.dsx.2020.10.019. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33120282.
49. Lin L, Tan W, Pan X, Tian E, Wu Z, Yang J. Metabolic syndrome-related kidney injury: A Review and Update. *Front. Endocrinol*. 2022; 13:904001
50. Pereira ERS, Pereira A de C, Andrade GB de, Naghettini AV, Pinto FKMS, Batista SR. Prevalence of chronic kidney disease in adults assisted in the Family Health Strategy. *Braz. J. of Nephrol*. 2016;38:22–30.
51. Feehally J, Griffith KE, Lamb EJ, O'Donoghue DJ, Tomson CRV. Early detection of chronic kidney disease. *BMJ*. 2008;337:a1618–8.

52. Lins SM de SB, Leite JL, Godoy S de, Tavares JMAB, Rocha RG, Silva FVC. Treatment adherence of chronic kidney disease patients on hemodialysis. *ACTA Paul Enferm.* 2018;31:54–60.
53. Ferro CJ, Mark PB, Kanbay M, Sarafidis P, Heine GH, Rossignol P, et al. Lipid management in patients with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14:727–49.
54. Mikolasevic I, Žutelija M, Mavrinac V, Orlic L. Dyslipidemia in patients with chronic kidney disease: etiology and management. *Inter. J. of Nephrol. and Renov. Disease.* 2017;10:35–45.
55. Yang H, Xin Z, Feng JP, Yang JK. Waist-to-height ratio is better than body mass index and waist circumference as a screening criterion for metabolic syndrome in Han Chinese adults. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(39):e8192.
56. Romero-Saldaña M, Fuentes-Jiménez FJ, Vaquero-Abellán M, Álvarez-Fernández C, Aguilera-López MD, Molina-Recio G. Predictive capacity and cutoff value of waist-to-height ratio in the incidence of metabolic syndrome. *Clin Nurs Res.* 2019;28:676–91.
57. Vogt BP, Ponce D, Caramori JCT. Anthropometric indicators predict metabolic syndrome diagnosis in maintenance hemodialysis patients. *Nutr Clin Pract.* 2016;31:368–74.
58. Kawamoto R, Kikuchi A, Akase T, Ninomiya D, Kumagi T. Usefulness of waist-to-height ratio in screening incident metabolic syndrome among Japanese community-dwelling elderly individuals. *PLoS One. Clin Hipertensa.* 2020;26:9.
59. Khoshhali M, Heidari-Beni M, Qorbani M, Motlagh ME, Ziaodini H, Heshmat R, et al. Tri-ponderal mass index and body mass index in prediction of pediatric metabolic syndrome: The caspian-v study. *Arch Endocrinol Metab.* 2020;64:171–8.
60. Ramírez-Vélez R, Correa-Bautista JE, Sanders-Tordecilla A, Ojeda-Pardo ML, Cobo-Mejía EA, Castellanos-Vega RD, et al. Percentage of body fat and fat mass index as a screening tool for metabolic syndrome prediction in colombian university students. *Nutrients.* 2017;9(9):1009.
61. Shukohifar M, Mozafari Z, Rahmanian M, Mirzaei M. Performance of body mass index and body fat percentage in predicting metabolic syndrome risk factors in diabetic patients of Yazd, Iran. *BMC Endocr Disord.* 2022;22(1):216.
62. Zhou TB, Xu HL, Yin SS. Association between endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism and diabetic nephropathy susceptibility. *Ren Fail.* 2013;35(1):173–178.
63. Zhou TB, Yin SS. Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism with the risk of end-stage renal disease. *Ren Fail.* 2013;35(4):573–578.
64. İlhan N, Ateş K, İlhan N, Kaman D, Çeliker H. eNOS Glu298Asp Polymorphism and endothelial dysfunction in patients with and without end-stage renal disease. *Balkan Med J.* 2016;33(2):128-137.
65. Joshaghani HR, Salehi A, Samadian E, Gharaei R, Ahmadi AR. Association between NOS3 G894T, T-786C and 4a/4b variants and coronary artery diseases in Iranian population. *Iran J Public Health.* 2018;47(12):1891-1898

66. El-Baz RA, Wafa A, Hosny NM, El-Saka SR. Biochemical study on endothelial nitric oxide gene polymorphism in fatty liver patients. IOSR J. Pharm. Biol. Sci. 2015;10(6):26-33.
67. Fattakhov NSDA, Skuratovskaya MA, Vasilenko, EV. Kirienkova, P. A. Zatolokin, N. I. Mironyuk, and L. S. Litvinova. Association of *glu298Asp* polymorphism of endothelial NO synthase gene with metabolic syndrome development: a pilot study. Bull Exp Biol Med. 2017;162(5):615-618.

Material suplementar 1 - Protocolo de extração de DNA PureLink® Genomic da ThermoFisher

Use the following protocol to prepare lysate from blood samples (nucleated or nonnucleated).

Note: If you are processing >200 µL blood sample, you need to Purchase additional PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer and Proteinase K.

1. Set a water bath or heat block at 55°C.
2. To a sterile microcentrifuge tube, add ≤200 µL fresh or frozen blood sample (if using <200 µL blood sample, adjust the sample volume to 200 µL using PBS). For processing blood samples >200 µL and ≤1 mL, scale up all reagent volumes accordingly.
3. Add 20 µL Proteinase K (supplied with the kit) to the sample.
4. Add 20 µL RNase A (supplied with the kit) to the sample, mix well by brief vortexing, and incubate at room temperature for 2 minutes.
5. Add 200 µL PureLinkR Genomic Lysis/Binding Buffer and mix well by vortexing to obtain a homogenous solution.
6. Incubate at 55°C for 10 minutes to promote protein digestion.
7. Add 200 µL 96–100% ethanol to the lysate. Mix well by vortexing for 5 seconds to yield a homogenous solution.
8. Proceed immediately to **Binding DNA**.

Binding DNA: 1. Remove a PureLinkR Spin Column in a Collection Tube from the package.

2. Add the lysate (~640 µL) prepared with PureLinkR Genomic Lysis/Binding Buffer and ethanol to the PureLinkR Spin Column.

3. Centrifuge the column at 10,000 × *g* for 1 minute at room temperature.

4. Discard the collection tube and place the spin column into a clean PureLinkR Collection Tube supplied with the kit.

5. Proceed to **Washing DNA**.

Washing DNA 1. Add 500 µL Wash Buffer 1 prepared with ethanol (page 23) to the column.

2. Centrifuge column at room temperature at 10,000 × *g* for 1 minute.

3. Discard the collection tube and place the spin column into a clean PureLinkR collection tube supplied with the kit.

4. Add 500 µL Wash Buffer 2 prepared with ethanol (page 23) to the column.

5. Centrifuge the column at maximum speed for 3 minutes at room temperature. Discard collection tube.

6. Proceed to **Eluting DNA**.

Eluting DNA 1. Place the spin column in a sterile 1.5-mL microcentrifuge tube.

2. Add 25–200 µL of PureLinkR Genomic Elution Buffer to the column. See **Elution Parameters** (page 13) to choose the suitable elution volume for your needs.

3. Incubate at room temperature for 1 minute. Centrifuge the column at maximum speed for 1 minute at room temperature. *The tube contains purified genomic DNA.*

4. To recover more DNA, perform a second elution step using the same elution buffer volume as first elution in another sterile, 1.5-mL microcentrifuge tube.

5. Centrifuge the column at maximum speed for 1.5 minutes at room temperature. *The tube contains purified DNA.* Remove and discard the column.

Storing DNA • Store the purified DNA at –20°C or use DNA for the desired downstream application. For long-term storage, store the purified DNA in PureLinkR Genomic Elution Buffer at –20°C as DNA stored in water is subject to acid hydrolysis. To avoid repeated freezing and thawing of DNA, store the purified DNA at 4°C for immediate use or aliquot the DNA and store at –20°C for long-term storage.