



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E
TECNOLOGIAS DA SAÚDE**

ALEXANDRE PEREIRA BATISTA

**POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE
AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES
PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL**

**Brasília - DF
2026**

ALEXANDRE PEREIRA BATISTA

**POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE
AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES
PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL**

Dissertação apresentada à
Universidade de Brasília – Faculdade de
Ceilândia, como parte dos requisitos
parciais para obtenção do título de mestre
pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências e Tecnologias da Saúde.

Orientadora:

Dr^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Co-orientador:

Dr. Linconl Agudo Oliveira Benito

**Brasília - DF
2026**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pb333p Pereira Batista, Alexandre
POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE
AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES PARA A
DISFUNÇÃO ENDOTELIAL / Alexandre Pereira Batista;
orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva ;
co-orientador Lincoln Agudo Oliveira Benito . Brasília,
2026.
102 p.

Dissertação(Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde)
Universidade de Brasília, 2026.

1. Hemodiálise. 2. Óxido nítrico sintase endotelial. 3.
Polimorfismo genético. 4. Metabolismo de aminoácidos. 5.
Disfunção endotelial. I. Cristina Rodrigues da Silva ,
Izabel , orient. II. Agudo Oliveira Benito , Lincoln ,
co-orient. III. Título.

ALEXANDRE PEREIRA BATISTA

**POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE
AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES
PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde, da Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Mestre em Ciências e Tecnologias em Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Prof. IZABEL CRISTINA RODRIGUES DA SILVA (Presidente)
(FCE / Universidade de Brasília)

Dra. MARIANA FURIO FRANCO BERNARDES
(UNICESP)

Dra. RENATA DE SOUZA FREITAS
(UNIRV)

Dra. SILVANA SCHWERZ FUNGHETTO,
(FCE / Universidade de Brasília)

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos representam a parte mais humana desta dissertação. Enquanto os dados podem ser analisados por métodos estatísticos, a importância das pessoas em nossa trajetória não pode ser quantificada - ela é sentida, vivida e eternamente reconhecida.

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder saúde, perseverança e discernimento ao longo de toda esta jornada. Por iluminar meus caminhos, fortalecer meus passos e permitir que eu alcançasse este momento. Reconheço n'Ele a fonte maior de sabedoria e o alicerce que sustentou cada etapa desta conquista.

Aos meus pais, Lázaro de Barros Batista (in memoriam) e Sirlene Pereira Batista, minha eterna gratidão. Seu amor e dedicação foram a base que sustentou cada passo desta caminhada. Tudo o que sou carrego daquilo que aprendi com vocês.

À minha querida irmã, Larissa Pereira Batista, por ser presença constante em minha vida, por compartilhar momentos, ouvir minhas inquietações, oferecer conselhos sinceros e caminhar comigo como uma verdadeira parceira. À minha família, pelo afeto constante, pelo incentivo incansável e pela presença que sempre me fortaleceu durante a minha caminhada.

À Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, minha orientadora e amiga, expresso minha profunda gratidão por acreditar em meu potencial e por me acolher com generosidade desde o início desta jornada. Agradeço por toda a orientação, apoio e confiança, pelo conhecimento compartilhado e, sobretudo, pela paciência e sensibilidade dedicadas a esta etapa da minha vida.

Ao Prof. Dr. Lincoln Agudo Oliveira Benito, pela coorientação dedicada, sensibilidade humana e amizade que marcaram positivamente minha trajetória acadêmica. Minha profunda gratidão.

Aos professores e estudantes, membros do Grupo de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias da Saúde, agradeço pela valiosa contribuição no manejo laboratorial das amostras e na organização dos dados desta pesquisa. Meu reconhecimento e profunda gratidão pelo comprometimento e colaboração em todas as etapas deste trabalho.

Em especial aos pacientes em hemodiálise, fonte de inspiração e sentido humano deste trabalho. Aos funcionários da Clínica Politécnica Saúde Ultramed, pelo suporte institucional e colaboração durante a execução da pesquisa, a Tatiane Cristine Lucena Nunes Prestes de Mattos e a Vera Lúcia Lucena, pela confiança e apoio concedidos. Registro aqui minha sincera gratidão.

Ao CNPq, FAP/DF e UnB pelo financiamento do projeto de pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias da Saúde (PPG-CTS).

A todos os meus sinceros agradecimentos.

Entre máquinas e silêncios, entre dados e histórias, compreendi que a ciência não nasce apenas das perguntas que fazemos, mas da sensibilidade em escutar o humano por trás de cada número. Pesquisar é buscar respostas; cuidar é reconhecer que, mesmo diante dos limites, a vida sempre encontra formas de resistir, ensinar e amar.

Fonte: Batista, A. P. (2026). Elaboração própria.

RESUMO

POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A desregulação do óxido nítrico (NO) endotelial constitui importante fator associado ao risco cardiovascular em pacientes com doença renal crônica submetidos à hemodiálise. Polimorfismos funcionais no gene da óxido nítrico sintase endotelial (NOS3) podem influenciar vias metabólicas relacionadas ao NO; entretanto, sua expressão fenotípica em populações em hemodiálise permanece pouco caracterizada. Este estudo teve como objetivo analisar a associação entre os polimorfismos funcionais do NOS3 — a variante promotora -786T>C e o VNTR de 27 pares de bases no íntron 4 — e características sociodemográficas, parâmetros clínicos, índices bioquímicos e hematológicos, marcadores relacionados ao NO e perfis direcionados de aminoácidos plasmáticos em adultos submetidos à hemodiálise crônica. Trata-se de estudo transversal exploratório, envolvendo adultos em hemodiálise de manutenção, genotipados para as variantes investigadas. Foram coletados dados sociodemográficos, clínicos, bioquímicos e hematológicos, além do perfil direcionado de aminoácidos plasmáticos. As comparações entre grupos foram realizadas por testes não paramétricos, com análises pós-hoc ajustadas pelo método de Holm. Nenhum dos polimorfismos apresentou associação com características sociodemográficas, adequação dialítica ou parâmetros laboratoriais de rotina. O VNTR de 27 pb associou-se a diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de citrulina, histidina, leucina, prolina e glutamina, enquanto a variante -786T>C demonstrou associações restritas à carnosina e à hidroxilisina. Os níveis circulantes de nitrito não diferiram significativamente entre os genótipos. Conclui-se que, em pacientes em hemodiálise de manutenção, a variação genética do NOS3 reflete-se predominantemente em assinaturas metabólicas, e não em marcadores clínicos convencionais, sendo o VNTR do íntron 4 associado a impacto metabólico mais amplo.

Palavras-chave: Hemodiálise. Óxido nítrico sintase endotelial. Polimorfismo genético. Metabolismo de aminoácidos. Disfunção endotelial.

ABSTRACT

METABOLIC SIGNATURES OF NOS3 GENETIC VARIATION IN PATIENTS RECEIVING MAINTENANCE HAEMODIALYSIS

Endothelial nitric oxide (NO) dysregulation is a key contributor to cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease receiving haemodialysis. Functional polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3) may modulate NO-related metabolic pathways; however, their phenotypic expression in haemodialysis populations remains poorly characterised. To analyse the association between functional polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3), specifically the -786T>C promoter variant and the 27-base-pair intron-4 VNTR, and sociodemographic characteristics, clinical parameters, biochemical and haematological indices, nitric oxide-related markers, and targeted plasma amino acid profiles in adults undergoing chronic haemodialysis. In this cross-sectional, exploratory study, adults undergoing chronic haemodialysis were genotyped for the NOS3 -786T>C promoter variant and the intron-4 27-bp variable number tandem repeat (VNTR). Sociodemographic, clinical, biochemical, and haematological parameters were assessed alongside targeted plasma amino acid profiling. Group comparisons were performed using non-parametric statistics with Holm-adjusted post-hoc testing. Neither NOS3 polymorphism was associated with sociodemographic characteristics, dialysis adequacy, or routine biochemical and haematological indices. The 27-bp VNTR was associated with significant differences in plasma concentrations of citrulline, histidine, leucine, proline, and glutamine, whereas the -786T>C polymorphism showed more limited associations, restricted to carnosine and hydroxylysine. Circulating nitrite levels did not differ significantly across genotypes. In patients undergoing chronic haemodialysis, NOS3 genetic variation is reflected predominantly in metabolic profiles rather than in conventional clinical or laboratory markers. The intron-4 VNTR exhibits a broader metabolic footprint than the -786T>C promoter variant, highlighting amino acid metabolism as a sensitive domain for detecting genotype-phenotype associations in this setting.

Keywords: Haemodialysis. Endothelial Nitric Oxide Synthase. Genetic Polymorphism. Amino Acid Metabolism. Endothelial Dysfunction.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características gerais dos principais marcadores laboratoriais da função renal	27
Tabela 2 – Influência de fatores não renais sobre creatinina e cistatina C	30
Tabela 3 – Desempenho clínico e analítico da creatinina e da cistatina C	31
Tabela 4 – Vantagens e limitações dos marcadores da função renal	31
Tabela 5 – Aplicações clínicas recomendadas dos marcadores da função renal	31
Tabela 6 – Classificação da proteinúria segundo o mecanismo fisiopatológico	33
Tabela 7 – Valores de referência e interpretação clínica da proteinúria total	34
Tabela 8 – Classificação da albuminúria e significado clínico	36
Tabela 9 – Métodos laboratoriais para avaliação da albuminúria	36
Tabela 10 – Interpretação integrada da TFG estimada e da albuminúria	38
Tabela 11- Características Clínicas e Sociodemográficas da População do Estudo.	59
Tabela 12 - Frequências Genotípicas e Equilíbrio de Hardy–Weinberg para os Polimorfismos do NOS3.	60
Tabela 13 – Variáveis sociodemográficas de acordo com os genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3 em pacientes em hemodiálise crônica	61
Tabela 14 – Variáveis Clínicas de Acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3	62
Tabela 15 – Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3	63
Tabela 16 - Perfil de Aminoácidos de Acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3	66
Tabela 17 - Variáveis Sociodemográficas de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C	69
Tabela 18 - Características Clínicas de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C	71
Tabela 19 - Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C	72
Tabela 20 - Tabela de Aminoácidos do polimorfismo NOS3 T-786C	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gene NOS3 (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANUS-SANTOS, 2016).	43
Figura 2 - Mapa de Calor dos Aminoácidos por Genótipo (NOS3 VNTR de 27 pb)	67
Figura 3 - Mapa de Calor dos Aminoácidos por Genótipo (NOS3 T-786C)	75

RELAÇÃO DE APÊNDICES

Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	90
Apêndice 2 - Termo de Guarda de Material Biológico	93
Apêndice 3 - Ficha Clínica do paciente	95

ANEXOS

Anexo 1 - Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)	97
Anexo 2 - Submissão do artigo em Revista científica	103

RELAÇÃO DAS SIGLAS E ABREVIATURAS

APS	Atenção Primária à Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DF	Distrito Federal
DM2	Diabetes Mellitus
DRC	Doença Renal Crônica
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão Arterial
PCR	Polymorphism Polymerase Chain Reaction
SNPs	Single Nucleotide Polymorphisms
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
ON	Óxido Nítrico
NOS3	Óxido nítrico Sintase Endotelial
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF	Taxa de Filtração Glomerular

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Doença Renal Crônica: visão geral	20
2.2 Dados Epidemiológicos	22
2.3 Fatores de risco	23
2.4 Função renal, taxa de filtração glomerular e metabolismo de aminoácidos na doença renal crônica	26
2.5 Taxa de Filtração Glomerular: conceito e relevância clínica.....	26
2.6 Hiperfiltração glomerular e risco cardiovascular	27
2.7 Marcadores laboratoriais da função renal.....	28
2.8 O rim como órgão metabólico e o perfil de aminoácidos na uremia.....	40
2.9 Aminoácidos-chave no contexto da uremia	42
3.0 Impacto da hemodiálise no perfil de aminoácidos	43
3 OBJETIVOS	49
3.1 Objetivo Geral	49
4 METODOLOGIA	50
4.1 Delineamento do estudo	50
4.2 População do estudo	50
4.3 População / Amostra / Amostragem	51
4.4 Coleta de dados.....	52
4.5 Polimorfismo NOS3 -786T>C (região promotora)	54
4.6 Polimorfismo NOS3 íntron 4 VNTR (repetição de 27 pares de bases)	55
4.7 Controle de qualidade e atribuição dos genótipos	56
4.8 Exames laboratoriais bioquímicos, hematológicos e avaliação da via do óxido nítrico	56
4.9 Avaliação hematológica	56
5.0 Marcadores da função renal	57
5.1 Determinação de nitrito e nitrato plasmáticos.....	57
5.2 Perfil de Aminoácidos Plasmáticos (Metabolômica Direcionada)	58
5.3 Análise Estatística.....	60
5.4 Considerações Éticas	61
5 RESULTADOS	62
5.1 Caracterização sociodemográfica	62
5.2 NOS3 Íntron-4 VNTR (repetição de 27 pb).....	63

5.2 Polimorfismo NOS3 T-786C	70
6 DISCUSSÃO	79
6.1 Visão Integrativa	79
6.2 Frequências Genóticas e Considerações sobre o Equilíbrio de Hardy–Weinberg.....	79
6.3 Domínios Sociodemográfico e Clínico: Padrão Nulo Robusto.....	80
6.4 Índices Bioquímicos e Hematológicos: Predominantemente Negativos, com um Sinal Imunológico.....	81
6.5 Assinaturas de Aminoácidos: Efeitos Amplos do VNTR e Pegada Restrita do T-786C	81
6.6 Plausibilidade Biológica e Síntese com Evidências Prévias	84
7 REFERÊNCIAS.....	85
8 APÊNDICES.....	88
8.1 APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	88
8.2 APÊNDICE 2 - Termo de Guarda de Material Biológico.....	91
8.3 APÊNDICE 3 - Ficha clínica do participante	93
9 ANEXOS.....	95
9.1 ANEXO 1 - Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).....	95
9.2 ANEXO 2 - Submissão para publicação (artigo)	101

1. INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é caracterizada por perda progressiva da função dos néfrons que, conseqüentemente, leva à perda de sua capacidade de filtrar e manter a homeostase, esta alteração fisiológica está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade com grande impacto socioeconômico, tornando-se um desafio de saúde pública em âmbito mundial (Jha *et al.*, 2013).

A DRC configura-se como um importante problema de saúde pública em âmbito global, caracterizada pela perda progressiva, irreversível e silenciosa da função renal ao longo do tempo. De acordo com as diretrizes internacionais, a DRC é definida pela presença de alterações estruturais ou funcionais dos rins, com duração igual ou superior a três meses, associadas à redução da taxa de filtração glomerular (TFG < 60 mL/min/1,73 m²) e/ou à presença de marcadores de lesão renal, como albuminúria, alterações urinárias ou anormalidades detectadas por exames de imagem (KDIGO, 2012).

Estima-se que a DRC afete aproximadamente 10% da população mundial, com prevalência crescente, especialmente em países em desenvolvimento, impulsionada pelo envelhecimento populacional e pelo aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus, principais etiologias da doença (GBD Chronic Kidney Disease Collaboration, 2020). No Brasil, dados apontam crescimento contínuo do número de indivíduos em terapia renal substitutiva, refletindo o impacto epidemiológico e econômico da DRC no Sistema Único de Saúde (SUS) (SBN, 2023).

Além do impacto clínico, a DRC impõe elevado ônus econômico ao sistema de saúde brasileiro. Estima-se que os custos relacionados à diálise e às complicações da doença consumam parcela significativa dos recursos destinados à média e alta complexidade no Sistema Único de Saúde (SUS). Ademais, a DRC contribui para perda de produtividade, aposentadorias precoces e aumento da dependência social, ampliando seus efeitos para além do setor saúde (Marinho *et al.*, 2023).

De acordo com a World Health Organization (2023), a DRC é reconhecida por organismos internacionais, como condição prioritária para ações integradas de vigilância epidemiológica, fortalecimento da atenção primária, prevenção de fatores de risco e ampliação do acesso ao cuidado especializado. O enfrentamento da DRC exige políticas públicas baseadas

em evidências, com foco na equidade, na identificação precoce e na redução das iniquidades em saúde, especialmente em populações vulneráveis.

Além de sua elevada prevalência, a DRC está associada a altos índices de morbimortalidade, sobretudo em decorrência de complicações cardiovasculares, distúrbios metabólicos, anemia, alterações ósseas e impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes.

A progressão da doença, quando não identificada e manejada precocemente, pode culminar na necessidade de terapias renais substitutivas, como hemodiálise, diálise peritoneal ou transplante renal, que representam elevado custo social, econômico e emocional (Levin *et al.*, 2017).

A DRC envolve mecanismos complexos, como hiperfiltração glomerular compensatória, inflamação crônica, fibrose intersticial e perda progressiva de néfrons funcionais. Esses processos culminam em alterações metabólicas e hormonais, incluindo distúrbios do metabolismo mineral e ósseo, anemia associada à deficiência de eritropoietina, acidose metabólica e dislipidemias, aumentando substancialmente o risco de eventos cardiovasculares, principal causa de morte em pacientes com DRC (Jha *et al.*, 2013).

Nesse contexto, destaca-se que o aumento da morbimortalidade cardiovascular em indivíduos com DRC não pode ser explicado exclusivamente pelos fatores de risco tradicionais, como hipertensão arterial, diabetes mellitus ou dislipidemia (SARNAK *et al.*, 2023). Evidências consistentes indicam que a disfunção endotelial constitui um mecanismo fisiopatológico central na progressão das complicações cardiovasculares associadas à DRC, manifestando-se precocemente e agravando-se à medida que a função renal declina. O endotélio vascular desempenha papel fundamental na regulação do tônus vascular, na modulação da inflamação e da trombose, sendo particularmente sensível às alterações induzidas pelo ambiente urêmico (JOURDE-CHICHE *et al.*, 2019)

Entre os principais mediadores da função endotelial, o óxido nítrico (NO) destaca-se como o principal fator vasodilatador endógeno, exercendo efeitos anti-inflamatórios, antiproliferativos e antitrombóticos. Na Doença Renal Crônica, a biodisponibilidade de NO encontra-se significativamente reduzida em decorrência de múltiplos mecanismos (BAYLIS, 2008), incluindo inflamação crônica (EBERT *et al.*, 2021), estresse oxidativo (DAENEN *et al.*, 2019) retenção de toxinas urêmicas (HARLACHER *et al.*, 2022) e aumento de inibidores endógenos da óxido nítrico sintase (RINDEI, *et al.* 2023). Essa redução da biodisponibilidade

de NO contribui diretamente para a disfunção endotelial, a rigidez vascular e o aumento do risco cardiovascular observados nessa população.

No âmbito molecular, variações genéticas têm sido reconhecidas como importantes moduladoras da susceptibilidade individual ao desenvolvimento e à progressão de diversas patologias crônicas. Os polimorfismos genéticos correspondem a variações na sequência do DNA, geralmente decorrentes da substituição de uma única base, capazes de alterar a expressão gênica e o funcionamento celular, influenciando processos fisiológicos e patológicos (BRASILEIRO, 1998).

No contexto da Doença Renal Crônica, alterações genéticas podem contribuir para a disfunção endotelial desde os estágios iniciais da doença, estando associadas à hipertensão arterial sistêmica, à proteinúria e à progressão do dano renal (BAYLIS, 2008). Nesse cenário, destaca-se o papel da via do óxido nítrico, uma vez que o descontrole em sua síntese está implicado na patogênese de doenças cardiovasculares, renais, processos inflamatórios, autoimunidade e rejeição de transplantes, além de interferir na regulação do ciclo celular e na expressão de proteínas envolvidas na homeostase vascular (TAMARA, 2008).

A síntese endotelial de óxido nítrico é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), codificada pelo gene NOS3, cuja expressão e atividade podem ser moduladas por polimorfismos funcionais (NADAUD *et al.*, 1994; CASAS, *et al.*, 2006). Em pacientes com DRC, o impacto dessas variações genéticas pode ser amplificado pelo ambiente urêmico, caracterizado por inflamação crônica, estresse oxidativo e profundas alterações metabólicas (YUN, Zhu *et al.*, 2014; MEDINA *et al.*, 2018.)

Adicionalmente, o rim exerce papel central no metabolismo intermediário de aminoácidos diretamente envolvidos na via do óxido nítrico, especialmente no eixo arginina–citrulina–NO. A perda progressiva da função renal compromete a conversão renal de citrulina em arginina e altera o perfil plasmático de aminoácidos, criando um ambiente metabólico que pode modular a expressão funcional dos polimorfismos do NOS3 (BAYLIS, 2008; WU, *et al.*, 2021). Nesse contexto, a avaliação de assinaturas metabólicas de aminoácidos emerge como uma abordagem promissora para a compreensão da relação entre variação genética, disfunção endotelial e risco cardiovascular em pacientes submetidos à hemodiálise (SONG, *et al.* 2026).

Apesar das evidências sobre a importância da via do óxido nítrico na Doença Renal Crônica, permanecem escassos os estudos que avaliam a expressão funcional de polimorfismos do gene NOS3 por meio de assinaturas metabólicas, especialmente em pacientes em

hemodiálise crônica, nos quais o metabolismo de aminoácidos pode representar um fenótipo intermediário mais sensível do que marcadores clínicos convencionais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Renal Crônica: visão geral

A (DRC) é definida como a presença de anormalidades estruturais ou funcionais dos rins, com duração igual ou superior a três meses, e com implicações diretas para a saúde do indivíduo. Essa definição, amplamente consolidada na prática clínica e na pesquisa científica, é reafirmada e atualizada pelas Diretrizes Clínicas da Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) de 2024, que caracterizam a DRC como uma condição heterogênea, progressiva e associada a elevado risco de desfechos adversos, incluindo progressão para falência renal, eventos cardiovasculares e mortalidade precoce (KDIGO, 2024).

De acordo com a KDIGO (2024), a DRC não deve ser compreendida apenas como uma redução isolada da função renal, mas como uma condição sistêmica, cujas manifestações refletem alterações complexas na homeostase metabólica, cardiovascular e inflamatória. A identificação da DRC baseia-se na persistência de alterações mensuráveis da função ou da estrutura renal, sendo os marcadores mais utilizados a redução da taxa de filtração glomerular (TFG) e a presença de albuminúria, embora outros marcadores de dano renal também possam estar presentes.

No que se refere à classificação, a KDIGO (2024) propõe o sistema CGA, que organiza a DRC segundo três eixos fundamentais: Causa (C), categoria da taxa de filtração glomerular (G) e categoria de albuminúria (A). Esse sistema representa um avanço conceitual relevante, ao permitir não apenas a estratificação da gravidade da doença, mas também a estimativa do risco de progressão e de desfechos clínicos adversos. As categorias de TFG variam de G1 (TFG ≥ 90 mL/min/1,73 m²) a G5 (TFG < 15 mL/min/1,73 m²), enquanto as categorias de albuminúria variam de A1 (normal a levemente aumentada) a A3 (severamente aumentada). A combinação desses parâmetros fornece uma avaliação integrada do risco, amplamente validada em estudos populacionais multinacionais (KDIGO, 2024).

As diretrizes KDIGO 2024 reforçam que tanto a redução da TFG quanto o aumento da albuminúria constituem preditores independentes e complementares de desfechos adversos. Evidências oriundas do *Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium* demonstram que o risco de progressão da DRC, eventos cardiovasculares, hospitalizações e mortalidade aumenta de forma gradativa à medida que a TFG diminui e a albuminúria se eleva, mesmo em estágios

iniciais da doença. Dessa forma, a DRC deve ser compreendida como um contínuo de risco, e não como uma condição dicotômica presente ou ausente (KDIGO, 2024).

Outro aspecto central destacado pela KDIGO (2024) é o reconhecimento da DRC como um importante problema de saúde pública em âmbito global. A diretriz aponta que a prevalência da DRC permanece elevada em diferentes regiões do mundo, com impacto desproporcional em populações envelhecidas e em indivíduos portadores de doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus. Ademais, a DRC contribui de forma significativa para a carga global de doença, expressa em anos de vida ajustados por incapacidade, e está associada a custos crescentes para os sistemas de saúde, especialmente nos estágios avançados da doença.

Do ponto de vista fisiopatológico, a KDIGO (2024) destaca que a DRC envolve mecanismos progressivos de perda de néfrons funcionais, acompanhados por adaptações hemodinâmicas compensatórias, inflamação crônica, estresse oxidativo e alterações metabólicas sistêmicas. Esses processos contribuem não apenas para a progressão da disfunção renal, mas também para o desenvolvimento de complicações extrarrenais, particularmente cardiovasculares, que representam a principal causa de morte em indivíduos com DRC, frequentemente superando o risco de progressão para falência renal terminal.

As diretrizes de 2024 também enfatizam a importância de uma abordagem baseada em risco para o manejo da DRC, ressaltando que a avaliação isolada da TFG é insuficiente para capturar a complexidade da doença. A incorporação de ferramentas de predição de risco, aliada à avaliação integrada da albuminúria, permite uma estratificação mais precisa dos pacientes e subsidia decisões clínicas relacionadas ao monitoramento, ao encaminhamento para cuidados especializados e à implementação de estratégias terapêuticas voltadas à redução da progressão da doença e de suas complicações (KDIGO, 2024).

Por fim, a KDIGO (2024) reconhece que a DRC deve ser compreendida como uma condição dinâmica, influenciada por fatores individuais, ambientais, metabólicos e genéticos. Essa perspectiva amplia o entendimento tradicional da doença e fornece a base conceitual para investigações que explorem mecanismos intermediários, como a disfunção endotelial, o metabolismo de aminoácidos e a variabilidade genética, aspectos fundamentais para a compreensão da heterogeneidade clínica e metabólica observada em pacientes com Doença Renal Crônica.

2.2 Dados Epidemiológicos

Segundo Kovesdy (2022) a DRC é reconhecida atualmente como uma das principais condições crônicas globais, com crescimento expressivo em prevalência, mortalidade e custos em saúde. Estimativas recentes indicam que a DRC afeta mais de 850 milhões de pessoas no mundo, superando, em número absoluto, doenças como diabetes e câncer. A prevalência global permanece entre 9% e 13% da população adulta, com tendência de aumento, especialmente em regiões com envelhecimento populacional acelerado e elevada carga de doenças crônicas não transmissíveis.

Análises epidemiológicas recentes demonstram que a DRC está entre as principais causas de mortalidade evitável, sendo responsável por milhões de óbitos anuais, direta ou indiretamente associados a complicações cardiovasculares. Projeções publicadas indicam que, até 2040, a DRC poderá figurar entre as cinco principais causas de morte no mundo, caso não sejam implementadas estratégias eficazes de prevenção, rastreamento e manejo precoce (FOREMAN *et al.*, 2022).

Em países de baixa e média renda, a carga da DRC é ainda mais expressiva, em razão de desigualdades no acesso aos serviços de saúde, diagnóstico tardio e limitações na oferta de terapias renais substitutivas. Estudos recentes apontam que mais de 80% das pessoas com DRC vivem em países em desenvolvimento, o que reforça o caráter da doença como desafio prioritário de saúde pública global (BIKBOV *et al.*, 2023).

No contexto brasileiro, a DRC apresenta elevada relevância epidemiológica, com estimativas indicando que aproximadamente 1 em cada 10 adultos apresenta algum grau de comprometimento da função renal. Dados mais recentes evidenciam crescimento contínuo do número de indivíduos em estágios avançados da doença, refletido no aumento da demanda por terapias renais substitutivas. Segundo informações atualizadas do Ministério da Saúde, a DRC está entre as condições crônicas que mais geram internações hospitalares evitáveis, sobretudo quando associada à hipertensão arterial sistêmica e ao diabetes mellitus (BRASIL, 2022).

Nesse contexto, podemos dizer que a atenção primária à saúde (APS) desempenha papel estratégico na identificação precoce da Doença Renal Crônica, uma vez que atua como porta de entrada preferencial do sistema de saúde e é responsável pelo acompanhamento longitudinal dos usuários. A detecção oportuna de fatores de risco, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, obesidade e histórico familiar de doença renal, possibilita a implementação de intervenções preventivas capazes de retardar a progressão da DRC e reduzir a necessidade

de terapias renais substitutivas em estágios avançados (BRASIL, 2014; SANTOS; SILVA, 2019).

Além disso, a integração entre os diferentes níveis de atenção à saúde é fundamental para assegurar a continuidade do cuidado às pessoas com DRC. A articulação entre a APS, os serviços de média e alta complexidade e a atenção especializada em nefrologia permite o acompanhamento adequado da evolução clínica, a realização periódica de exames diagnósticos e o encaminhamento oportuno ao especialista quando indicado. Essa organização em rede contribui para a melhoria dos desfechos clínicos, a racionalização dos recursos do sistema de saúde e a redução da morbimortalidade associada à doença (MENDES, 2011; BRASIL, 2017).

Outro aspecto relevante refere-se ao papel da educação em saúde e do autocuidado apoiado no manejo da Doença Renal Crônica. Estratégias educativas voltadas aos usuários e seus familiares favorecem a adesão ao tratamento, a adoção de hábitos de vida saudáveis e o controle adequado das comorbidades associadas, especialmente hipertensão arterial e diabetes mellitus. A promoção do autocuidado, aliada ao acompanhamento multiprofissional, fortalece a autonomia do paciente e impacta positivamente na qualidade de vida, sobretudo nos estágios iniciais da doença (MALTA *et al.*, 2017; BARROS *et al.*, 2018).

Dessa forma, o enfrentamento da Doença Renal Crônica requer uma abordagem integral e contínua, centrada no usuário, que considere os determinantes sociais da saúde e as especificidades do território. A implementação de políticas públicas eficazes, articuladas a práticas assistenciais baseadas em evidências científicas e diretrizes clínicas, mostra-se essencial para minimizar os impactos da DRC no sistema de saúde e na vida das pessoas acometidas, reforçando a importância de estratégias preventivas e de cuidado longitudinal (LEVEY; CORESH, 2012; KDIGO, 2013).

2.3 Fatores de risco

Os fatores de risco para o desenvolvimento da (DRC) estão fortemente associados a condições crônicas não transmissíveis, especialmente o diabetes mellitus e a hipertensão arterial sistêmica, que, em conjunto, representam as principais causas de DRC em âmbito mundial. O diabetes mellitus contribui para o dano renal por meio de mecanismos fisiopatológicos complexos, incluindo hiperglicemia persistente, estresse oxidativo, inflamação crônica e alterações hemodinâmicas glomerulares, culminando em nefropatia diabética e perda progressiva da função renal (LEVEY; CORESH, 2012; KDIGO, 2013).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS), por sua vez, constitui tanto um fator de risco quanto uma consequência da DRC, estabelecendo uma relação bidirecional que potencializa a progressão da doença. A elevação sustentada da pressão arterial promove lesões estruturais nos glomérulos e nos vasos renais, favorecendo a esclerose glomerular e a redução da taxa de filtração glomerular ao longo do tempo.

Evidências científicas demonstram que o controle inadequado da pressão arterial está diretamente associado à progressão acelerada da DRC e ao aumento do risco de eventos cardiovasculares (BRASIL, 2014; KDIGO, 2013).

Além dessas condições, fatores metabólicos desempenham papel relevante na gênese e na progressão da DRC. A obesidade, a dislipidemia e a síndrome metabólica contribuem para alterações inflamatórias sistêmicas, resistência à insulina e sobrecarga hemodinâmica renal, favorecendo o dano estrutural e funcional dos rins. Estudos indicam que indivíduos com síndrome metabólica apresentam maior risco de desenvolver DRC, independentemente da presença isolada de diabetes ou hipertensão, o que reforça a importância de abordagens preventivas integradas voltadas ao controle do perfil metabólico (MALTA *et al.*, 2017; BARROS *et al.*, 2018).

Nesse sentido, o reconhecimento e o manejo adequado dos principais fatores de risco para a DRC são fundamentais para estratégias de prevenção primária e secundária, sobretudo no âmbito da atenção primária à saúde. Intervenções precoces direcionadas ao controle glicêmico, à manutenção de níveis pressóricos adequados e à modificação de fatores metabólicos associados têm demonstrado impacto significativo na redução da incidência e na desaceleração da progressão da doença, contribuindo para melhores desfechos clínicos e redução da carga da DRC sobre os sistemas de saúde (WHO, 2023).

Sendo assim, evidências científicas consistentes indicam que indivíduos com síndrome metabólica apresentam risco aumentado para o desenvolvimento da (DRC), bem como maior probabilidade de progressão mais rápida da perda da função renal. Essa associação decorre da interação complexa entre os múltiplos componentes da síndrome metabólica, que promovem alterações hemodinâmicas, inflamatórias e metabólicas capazes de comprometer a estrutura e a função renal de forma cumulativa (THOMAS *et al.*, 2011).

Estudos longitudinais demonstram que a presença da síndrome metabólica está associada ao aumento da incidência de albuminúria e à redução progressiva da taxa de filtração glomerular, mesmo em indivíduos sem diagnóstico prévio de diabetes mellitus ou hipertensão arterial. Tal achado sugere que a síndrome metabólica (SM), enquanto entidade clínica

multifatorial, exerce efeito independente sobre o risco renal, configurando-se como importante marcador precoce de vulnerabilidade para DRC (CHEN *et al.*, 2004).

Do ponto de vista fisiopatológico, a síndrome metabólica contribui para o desenvolvimento da DRC por meio da ativação crônica do sistema inflamatório, do aumento do estresse oxidativo e da disfunção endotelial. A resistência à insulina, elemento central da síndrome, favorece a retenção de sódio, a hiperatividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona e a elevação da pressão intraglomerular, mecanismos que aceleram o processo de lesão renal e fibrose intersticial (GRUNDY, 2016).

Além disso, a obesidade visceral, característica frequente da síndrome metabólica, está associada a alterações estruturais nos rins, incluindo glomerulomegalia, hiperfiltração inicial e posterior esclerose glomerular. Estudos observacionais indicam que o excesso de tecido adiposo contribui para o acúmulo de lipídios no parênquima renal, fenômeno conhecido como lipotoxicidade renal, que intensifica o dano celular e favorece a progressão da DRC (HALL *et al.*, 2014).

Pesquisas populacionais também evidenciam uma relação dose-resposta entre o número de componentes da síndrome metabólica e o risco de DRC, ou seja, quanto maior o número de alterações metabólicas presentes, maior o comprometimento da função renal ao longo do tempo. Esse achado reforça a necessidade de abordagens preventivas integradas, voltadas não apenas ao controle isolado de fatores de risco, mas à redução global do risco cardiometabólico (KURELLA TAMURA; VAZIRI, 2012).

Sendo assim, nos estágios avançados, especialmente quando a TFG é inferior a 15 mL/min/1,73 m², a DRC evolui para a doença renal terminal, fase na qual se torna necessária a terapia renal substitutiva, incluindo hemodiálise, diálise peritoneal ou transplante renal. Esse estágio está associado a elevada morbimortalidade, principalmente por causas cardiovasculares, além de impacto significativo na qualidade de vida e aumento expressivo dos custos para os sistemas de saúde (LOZANO *et al.*, 2012).

2.4 Função renal, taxa de filtração glomerular e metabolismo de aminoácidos na doença renal crônica

A (DRC) caracteriza-se por alterações progressivas da função renal, com repercussões sistêmicas que extrapolam o acúmulo de metabólitos nitrogenados. O rim exerce papel central não apenas como órgão excretor, mas também como órgão metabólico, responsável pela síntese, interconversão e regulação de diversos aminoácidos. Assim, a redução da função renal compromete simultaneamente a taxa de filtração glomerular (TFG), a integridade estrutural do néfron e o equilíbrio metabólico sistêmico, resultando em profundas alterações bioquímicas e vasculares (TIETZ, 2014).

2.5 Taxa de Filtração Glomerular: conceito e relevância clínica

A taxa de filtração glomerular (TFG) corresponde ao volume de plasma filtrado pelos glomérulos por unidade de tempo e representa o parâmetro mais amplamente aceito para a avaliação global da função renal.

Sob a perspectiva fisiológica, a TFG expressa a soma da atividade funcional dos néfrons individuais e é determinada pela interação entre o número de néfrons funcionantes, a integridade estrutural da barreira de filtração glomerular e as condições hemodinâmicas que regulam o fluxo sanguíneo renal (TIETZ, 2014).

A barreira de filtração glomerular consiste em uma estrutura altamente especializada, formada pelo endotélio capilar fenestrado, pela membrana basal glomerular e pelos podócitos. Essa organização permite elevada permeabilidade à água e a solutos de baixo peso molecular, ao mesmo tempo em que restringe a passagem de macromoléculas, especialmente proteínas plasmáticas. Alterações estruturais ou funcionais em qualquer um desses componentes, bem como modificações no tônus das arteríolas aferente e eferente, exercem impacto direto sobre a TFG, mesmo na ausência de manifestações clínicas evidentes (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Do ponto de vista fisiopatológico, a TFG apresenta mecanismos de autorregulação que mantêm a filtração relativamente constante em ampla faixa de pressões arteriais sistêmicas. Esses mecanismos envolvem respostas miogênicas da arteríola aferente e a retroalimentação túbulo-glomerular. No entanto, em condições patológicas crônicas, como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e doenças glomerulares primárias, essa autorregulação pode

tornar-se progressivamente ineficaz, contribuindo para alterações sustentadas da TFG (LEVEY *et al.*, 2009).

A redução da TFG ocorre de forma gradual e silenciosa na maioria das doenças renais, frequentemente antecedendo por anos o aparecimento de sinais e sintomas clínicos, como edema, oligúria ou manifestações urêmicas. Essa característica explica por que a (DRC) é frequentemente diagnosticada em estágios avançados, quando a reserva funcional renal já se encontra significativamente comprometida. Nesse contexto, a estimativa laboratorial da TFG assume papel central no diagnóstico precoce da DRC e na implementação de estratégias terapêuticas capazes de retardar sua progressão (KDIGO, 2013).

Além de seu valor diagnóstico, a TFG possui elevada relevância prognóstica. Evidências consistentes demonstram associação independente entre a redução da TFG e o aumento do risco de eventos cardiovasculares, hospitalizações e mortalidade por todas as causas. Dessa forma, a TFG deve ser compreendida não apenas como um marcador de função renal, mas também como um importante indicador de risco sistêmico, reforçando a necessidade de sua avaliação rotineira e longitudinal na prática clínica (LEVEY *et al.*, 2011).

Do ponto de vista laboratorial, a mensuração direta da TFG por meio de marcadores exógenos, como inulina ou radiofármacos, é considerada o padrão-ouro, porém não é viável na rotina clínica devido à complexidade metodológica, ao custo elevado e à necessidade de infraestrutura especializada. Assim, a prática clínica baseia-se predominantemente na estimativa indireta da TFG, utilizando marcadores endógenos, como creatinina e cistatina C, cuja concentração plasmática ou depuração renal se correlaciona com a capacidade de filtração glomerular (TIETZ, 2014).

2.6 Hiperfiltração glomerular e risco cardiovascular

Em estágios iniciais de diversas condições clínicas, particularmente no diabetes mellitus e na obesidade, pode ocorrer um fenômeno conhecido como hiperfiltração glomerular, caracterizado por elevação da TFG acima dos valores considerados fisiológicos. Esse aumento resulta, em geral, de alterações hemodinâmicas intraglomerulares, como vasodilatação da arteríola aferente e aumento da pressão capilar glomerular, representando inicialmente um mecanismo adaptativo para compensar demandas metabólicas aumentadas (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Embora a hiperfiltração possa ser interpretada, em um primeiro momento, como sinal de função renal preservada ou até aumentada, evidências demonstram que esse estado está associado a maior estresse mecânico sobre a barreira de filtração glomerular. Com o tempo, esse estresse contribui para lesão estrutural progressiva, perda de podócitos, desenvolvimento de albuminúria e declínio subsequente da TFG, configurando um mecanismo central na progressão da DRC (LEVEY *et al.*, 2011).

Do ponto de vista clínico, a hiperfiltração glomerular tem sido associada não apenas à progressão da doença renal, mas também ao aumento do risco cardiovascular. Estudos observacionais indicam que indivíduos com hiperfiltração apresentam maior incidência de eventos cardiovasculares, mesmo na ausência de redução aparente da TFG, sugerindo que esse estado reflete uma condição sistêmica de disfunção endotelial e sobrecarga hemodinâmica (KDIGO, 2013).

Nesse contexto, a interpretação isolada de valores elevados de TFG pode ser enganosa. A identificação de hiperfiltração glomerular exige análise cuidadosa do contexto clínico, incluindo presença de diabetes, obesidade, hipertensão arterial e albuminúria. Assim, a avaliação integrada da TFG, da albuminúria e dos fatores de risco cardiovasculares torna-se essencial para a correta estratificação de risco e para a definição de estratégias terapêuticas precoces.

2.7 Marcadores laboratoriais da função renal

2.7.1 Creatinina

A creatinina é um produto do metabolismo da creatina e da fosfocreatina muscular, sendo liberada na circulação de forma relativamente constante em indivíduos com massa muscular estável. No rim, é livremente filtrada no glomérulo e, adicionalmente, sofre secreção tubular em proporção variável.

Apesar de sua ampla utilização histórica, a creatinina apresenta limitações relevantes como marcador da função renal. Sua concentração plasmática é influenciada por diversos fatores não renais, incluindo idade, sexo, massa muscular, dieta e estado nutricional. Além disso, a secreção tubular de creatinina pode aumentar em situações de disfunção renal, levando à superestimação da TFG.

As principais diferenças fisiológicas e laboratoriais entre creatinina e cistatina C estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características gerais dos principais marcadores laboratoriais da função renal

Característica	Creatinina	Cistatina C
Natureza bioquímica	Produto do metabolismo muscular	Proteína de baixo peso molecular
Peso molecular	113 Da	12,8 kDa
Origem	Metabolismo da creatina	Produção por todas as células nucleadas
Produção	Variável entre indivíduos	Relativamente constante
Filtração glomerular	Livre	Livre
Secreção tubular	Presente	Ausente
Reabsorção tubular	Não ocorre	Completa, com catabolismo
Eliminação extrarrenal	Presente	Ausente

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

2.7.2 Estimativas da TFG baseadas em creatinina

Diante das limitações inerentes à interpretação isolada da creatinina sérica, especialmente sua baixa sensibilidade para detectar reduções iniciais da função renal, foram desenvolvidas equações matemáticas com o objetivo de estimar a taxa de filtração glomerular (TFG) de forma mais acurada. Essas equações buscam corrigir parcialmente a influência de fatores biológicos não renais por meio da incorporação de variáveis demográficas, permitindo uma aproximação mais fidedigna da função renal real (TIETZ, 2014).

Entre as equações mais amplamente utilizadas destacam-se a MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) e a CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). Ambas utilizam a creatinina sérica como variável central, associada a fatores como idade e sexo, partindo do pressuposto de que essas variáveis refletem, de maneira indireta, diferenças médias na produção endógena de creatinina (LEVEY *et al.*, 2009).

A equação MDRD foi desenvolvida a partir de uma população composta majoritariamente por indivíduos com doença renal crônica moderada a avançada. Em razão disso, apresenta desempenho adequado em faixas mais baixas de TFG, porém tende a subestimar a função renal em indivíduos com TFG preservada ou discretamente reduzida, o que

limita sua aplicabilidade em contextos de rastreamento e diagnóstico precoce (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Com o objetivo de superar essas limitações, a equação CKD-EPI foi desenvolvida utilizando uma população mais heterogênea, incluindo indivíduos com função renal normal ou levemente reduzida. Evidências consistentes demonstram que a CKD-EPI apresenta maior acurácia e menor viés sistemático, especialmente em valores de TFG superiores a 60 mL/min/1,73 m², sendo atualmente recomendada como método preferencial para estimativa da TFG baseada em creatinina por diversas diretrizes internacionais (LEVEY *et al.*, 2009).

Apesar do avanço representado por essas equações, sua acurácia permanece fortemente dependente da padronização analítica da creatinina, especialmente da rastreabilidade dos métodos laboratoriais aos procedimentos de referência baseados em espectrometria de massa por diluição isotópica (IDMS). Desvios analíticos na dosagem da creatinina podem resultar em erros sistemáticos na estimativa da TFG e, conseqüentemente, na classificação incorreta do estágio da doença renal crônica (TIETZ, 2014).

Além disso, as equações baseadas em creatinina não eliminam completamente a influência de fatores biológicos individuais, como variações extremas de massa muscular, desnutrição, estados catabólicos, amputações ou doenças crônicas associadas à produção alterada de creatinina. Nessas situações, a TFG estimada pode não refletir adequadamente a função renal real, exigindo interpretação cautelosa dos resultados (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

2.7.3 Cistatina C

A cistatina C é uma proteína de baixo peso molecular produzida de forma constante por todas as células nucleadas do organismo. Diferentemente da creatinina, sua produção é independente da massa muscular, da dieta e do sexo. No rim, é livremente filtrada no glomérulo e quase totalmente reabsorvida e catabolizada no túbulo proximal, não retornando à circulação. Essas características conferem à cistatina C maior especificidade para avaliação da função renal e maior sensibilidade para detectar reduções leves a moderadas da TFG. No entanto, suas concentrações plasmáticas podem ser influenciadas por processos inflamatórios e alterações da função tireoidiana.

2.7.4 Comparação entre CKD-EPI baseada em creatinina e CKD-EPI combinada (creatinina + cistatina C)

Com o reconhecimento das limitações das equações baseadas exclusivamente na creatinina, foram desenvolvidas versões da equação CKD-EPI que incorporam simultaneamente a creatinina sérica e a cistatina C. A equação CKD-EPI creatinina+cistatina C combina dois marcadores com determinantes biológicos distintos, reduzindo o impacto de vieses associados à produção muscular de creatinina e às variações inflamatórias isoladas da cistatina C (LEVEY *et al.*, 2012).

Estudos demonstram que a equação combinada apresenta maior acurácia, menor viés e melhor estratificação de risco, especialmente em indivíduos com TFG próxima aos pontos de corte clínicos, nos quais pequenas variações podem implicar mudanças relevantes na classificação da doença renal crônica. Essa abordagem é particularmente útil em populações especiais, como idosos, indivíduos com baixa massa muscular e pacientes com discrepância entre creatinina sérica e quadro clínico (LEVEY *et al.*, 2012).

Do ponto de vista clínico, a CKD-EPI creatinina+cistatina C não substitui completamente as equações tradicionais, mas atua como ferramenta confirmatória, recomendada quando há incerteza diagnóstica ou quando a estimativa da TFG baseada apenas na creatinina pode ser imprecisa (LEVEY *et al.*, 2012).

Assim, a utilização combinada desses marcadores representa um avanço conceitual na avaliação laboratorial da função renal, alinhando-se a uma abordagem mais individualizada e biologicamente fundamentada (TIETZ, 2014).

A influência de fatores não renais sobre creatinina e cistatina C é apresentada na Tabela 2, enquanto o desempenho clínico comparativo desses marcadores encontra-se sintetizado na Tabela 3.

Tabela 2 – Influência de fatores não renais sobre creatinina e cistatina C

Fator	Creatinina	Cistatina C
Massa muscular	Forte influência	Não significativa
Idade	Influência indireta	Discreta
Sexo	Influência significativa	Mínima
Dieta proteica	Influência relevante	Sem influência
Exercício físico	Pode elevar níveis	Sem influência
Inflamação sistêmica	Não influencia	Pode elevar níveis
Doença tireoidiana	Não influencia	Pode alterar níveis

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

Tabela 3 – Desempenho clínico e analítico da creatinina e da cistatina C

Aspecto	Creatinina	Cistatina C
Sensibilidade para redução leve da TFG	Baixa	Alta
Deteção precoce da DRC	Limitada	Superior
Especificidade renal	Moderada	Elevada
Variabilidade interindividual	Alta	Baixa
Uso isolado	Não recomendado	Possível, com ressalvas

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

As vantagens, limitações e aplicações clínicas dos marcadores da filtração glomerular estão resumidas nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Vantagens e limitações dos marcadores da função renal

Marcador	Vantagens	Limitações
Creatinina	Baixo custo; ampla disponibilidade	Baixa sensibilidade; influência de fatores não renais
Cistatina C	Maior sensibilidade; menor influência biológica	Custo elevado; menor disponibilidade

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

Tabela 5 – Aplicações clínicas recomendadas dos marcadores da função renal

Situação clínica	Marcador recomendado
Rastreamento inicial	Creatinina com TFG estimada
Suspeita de DRC inicial	Cistatina C
Idosos ou baixa massa muscular	Cistatina C
Monitoramento da DRC	Creatinina associada à cistatina C

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

2.7.5 Proteinúria como marcador de lesão renal

A proteinúria corresponde à presença anormal de proteínas na urina e constitui um dos marcadores mais relevantes de lesão renal, refletindo alterações estruturais e funcionais ao longo do néfron. Em condições fisiológicas, a excreção urinária total de proteínas é inferior a 150 mg em 24 horas, resultado da elevada seletividade da barreira de filtração glomerular e da eficiente capacidade de reabsorção tubular das proteínas de baixo peso molecular filtradas (TIETZ, 2014).

Do ponto de vista fisiopatológico, a proteinúria pode decorrer de diferentes mecanismos, incluindo aumento da permeabilidade da barreira glomerular, sobrecarga plasmática de proteínas ou comprometimento da reabsorção tubular. Cada um desses mecanismos reflete processos patológicos distintos e possui implicações diagnósticas e prognósticas específicas, tornando essencial sua correta caracterização no contexto clínico-laboratorial (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

A barreira de filtração glomerular, composta pelo endotélio capilar fenestrado, pela membrana basal glomerular e pelos podócitos, exerce papel central na restrição da passagem de proteínas plasmáticas para o filtrado. Alterações estruturais ou funcionais desses componentes, como ocorre em glomerulopatias primárias ou secundárias, resultam em aumento da permeabilidade glomerular e consequente perda urinária de proteínas, predominantemente albumina. Esse tipo de proteinúria, denominada proteinúria glomerular, está frequentemente associada a pior prognóstico renal e maior risco de progressão da doença renal crônica (DRC) (LEVEY *et al.*, 2011).

Em contraste, a proteinúria tubular decorre da redução da capacidade de reabsorção das proteínas de baixo peso molecular normalmente filtradas pelo glomérulo. Esse mecanismo é observado em doenças que acometem o túbulo proximal, como nefrites túbulo-intersticiais, intoxicações por fármacos ou metais pesados. Nesses casos, a proteinúria é geralmente quantitativamente menor do que a observada nas glomerulopatias, porém sua identificação é fundamental para o direcionamento diagnóstico (TIETZ, 2014).

Outro mecanismo relevante é a proteinúria por transbordamento, que ocorre quando há produção plasmática excessiva de proteínas de baixo peso molecular, excedendo a capacidade de reabsorção tubular. Exemplos clássicos incluem a excreção de cadeias leves de imunoglobulinas em neoplasias hematológicas, como o mieloma múltiplo. Embora a barreira glomerular esteja estruturalmente preservada, a elevada carga proteica filtrada resulta em proteinúria significativa, com importantes implicações clínicas (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Além dessas formas, existem situações de proteinúria funcional ou transitória, observadas em condições como exercício físico intenso, febre, estresse ou postura ortostática prolongada. Nessas circunstâncias, a proteinúria tende a ser reversível e não está associada a lesão renal estrutural persistente, devendo ser diferenciada das formas patológicas por meio de avaliação clínica e laboratorial adequada (LEVEY *et al.*, 2011).

A classificação da proteinúria segundo o mecanismo fisiopatológico é fundamental para o raciocínio clínico-laboratorial, permitindo correlacionar o achado laboratorial com a provável topografia da lesão renal e orientar investigações complementares. Essa classificação encontra-se sintetizada na Tabela 6, que destaca os principais tipos de proteinúria e suas características distintivas.

Do ponto de vista prognóstico, a presença e a magnitude da proteinúria constituem importantes preditores de progressão da DRC e de eventos cardiovasculares. Estudos demonstram que níveis mais elevados de proteinúria estão associados a maior taxa de declínio da TFG e a pior desfecho clínico, independentemente da etiologia da doença renal. Assim, a proteinúria deve ser encarada não apenas como um marcador diagnóstico, mas também como um alvo terapêutico e um indicador de resposta ao tratamento (KDIGO, 2013).

Portanto, a avaliação da proteinúria, aliada à análise integrada da TFG e de outros marcadores laboratoriais, desempenha papel central na identificação precoce da lesão renal, na estratificação de risco e no acompanhamento evolutivo dos pacientes com doenças renais, reforçando sua relevância na prática clínica e na pesquisa científica.

Tabela 6 – Classificação da proteinúria segundo o mecanismo fisiopatológico

Tipo	Mecanismo	Característica
Glomerular	Aumento da permeabilidade	Predomínio de albumina
Tubular	Falha de reabsorção	Proteínas de baixo peso molecular
Transbordamento	Excesso plasmático	Proteínas específicas
Funcional	Alteração transitória	Reversível
Ortostática	Postura ereta	Ausente em decúbito

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

Os valores de referência da proteinúria total e sua interpretação clínica são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de referência e interpretação clínica da proteinúria total

Excreção	Interpretação
< 150 mg/24 h	Normal
150–300 mg/24 h	Discreta
> 300 mg/24 h	Patológica
> 1.000 mg/24 h	Sugere origem glomerular
> 3.500 mg/24 h	Síndrome nefrótica

Fonte: Elaborado pelo autor com base em DELANEY, M. P.; PRICE, C. P.; LAMB, E. J. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7. ed. St. Louis: Elsevier, 2014.

2.7.6 Albuminúria como marcador preferencial de lesão renal precoce

A albuminúria é atualmente reconhecida como o marcador laboratorial mais sensível e precoce de lesão renal, especialmente no contexto das nefropatias glomerulares. A albumina constitui a principal proteína plasmática perdida na maioria das doenças renais crônicas, refletindo alterações iniciais da permeabilidade da barreira de filtração glomerular, frequentemente detectáveis antes mesmo de reduções significativas da taxa de filtração glomerular (TFG) (TIETZ, 2014).

Do ponto de vista fisiopatológico, a presença de albumina na urina indica comprometimento funcional ou estrutural da barreira de filtração glomerular, composta pelo endotélio capilar, pela membrana basal glomerular e pelos podócitos. Alterações nesses componentes, como disfunção endotelial, espessamento ou perda de cargas negativas da membrana basal e lesão ou descolamento de podócitos, favorecem o aumento da permeabilidade à albumina, mesmo em estágios iniciais da doença renal (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

A albuminúria possui particular relevância clínica por sua capacidade de identificar lesão renal subclínica, especialmente em populações de risco, como indivíduos com diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, obesidade e doenças cardiovasculares. Nesses grupos, a detecção precoce da albuminúria permite intervenções terapêuticas oportunas, com potencial

para retardar a progressão da doença renal e reduzir o risco de eventos cardiovasculares associados (KDIGO, 2013).

Do ponto de vista prognóstico, numerosos estudos demonstram que a presença e a magnitude da albuminúria estão associadas de forma independente ao declínio da TFG, à progressão da doença renal crônica e ao aumento da mortalidade cardiovascular. Assim, a albuminúria deve ser interpretada não apenas como um marcador de lesão renal, mas também como um indicador sistêmico de risco cardiovascular, refletindo processos patológicos comuns, como inflamação crônica, estresse oxidativo e disfunção endotelial (LEVEY *et al.*, 2011).

A classificação da albuminúria, apresentada na Tabela 8, baseia-se na quantidade de albumina excretada na urina e permite estratificar os indivíduos em diferentes categorias de risco. Valores persistentemente elevados, mesmo em faixas consideradas moderadamente aumentadas, já se associam a pior prognóstico renal e cardiovascular, reforçando a importância da detecção e do acompanhamento longitudinal desse marcador (KDIGO, 2013).

No que se refere à avaliação laboratorial, a albuminúria pode ser quantificada por diferentes métodos, descritos na Tabela 9. Os métodos imunológicos, como a nefelometria e a imunoturbidimetria, apresentam elevada sensibilidade e especificidade para a detecção de pequenas quantidades de albumina, sendo preferidos em relação aos métodos semiquantitativos, como as tiras reagentes, que apresentam baixa sensibilidade para níveis iniciais de excreção (TIETZ, 2014).

A razão albumina/creatinina (RAC), obtida a partir de amostra isolada de urina, constitui atualmente o método recomendado para avaliação da albuminúria na prática clínica, por reduzir erros associados à coleta urinária de 24 horas e apresentar boa correlação com a excreção diária de albumina. A utilização da RAC facilita o rastreamento, o monitoramento e a comparação longitudinal dos resultados, especialmente em contextos ambulatoriais (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Dessa forma, a albuminúria consolida-se como marcador preferencial de lesão renal precoce, desempenhando papel central na identificação subclínica da doença renal, na estratificação de risco e no monitoramento da resposta terapêutica. Sua avaliação sistemática, integrada à estimativa da TFG e aos demais parâmetros laboratoriais, constitui componente essencial da abordagem contemporânea das doenças renais crônicas.

Tabela 8 – Classificação da albuminúria e significado clínico

Categoria	Excreção de albumina	Significado
A1	< 30 mg/24 h	Normal
A2	30–300 mg/24 h	Moderadamente aumentada
A3	> 300 mg/24 h	Severamente aumentada

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

Tabela 9 – Métodos laboratoriais para avaliação da albuminúria

Método	Amostra	Observação
Urina de 24 h	Coleta temporizada	Quantificação direta
Razão albumina/creatinina	Amostra isolada	Método preferencial
Tira reagente	Amostra isolada	Baixa sensibilidade

Fonte: Elaborado pelo autor com base em DELANEY, M. P.; PRICE, C. P.; LAMB, E. J. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7. ed. St. Louis: Elsevier, 2014.

2.7.7 Integração entre TFG e Albuminúria

A avaliação integrada da taxa de filtração glomerular (TFG) estimada e da albuminúria representa atualmente o eixo central da abordagem diagnóstica contemporânea das doenças renais, superando a interpretação isolada de marcadores laboratoriais. Essa integração permite não apenas identificar a presença de disfunção renal, mas também caracterizar o tipo de lesão, estimar o risco de progressão da (DRC) e avaliar o impacto sistêmico da condição renal sobre outros desfechos clínicos, especialmente cardiovasculares (KDIGO, 2013).

A TFG reflete primordialmente a capacidade funcional global dos rins, estando diretamente relacionada ao número de néfrons funcionantes e às condições hemodinâmicas intrarrenais. Em contrapartida, a albuminúria constitui um marcador de lesão estrutural da barreira de filtração glomerular, frequentemente detectável em fases precoces da doença renal, mesmo quando a TFG ainda se encontra dentro de valores considerados normais ou discretamente reduzidos (TIETZ, 2014).

Nesse sentido, a análise isolada da TFG pode subestimar a presença de dano renal inicial, particularmente em indivíduos com reserva funcional preservada. Da mesma forma, a albuminúria isolada, sem consideração da TFG, não permite avaliar adequadamente a extensão da perda funcional renal. A integração desses dois parâmetros possibilita uma compreensão mais completa do estado renal, distinguindo entre alterações predominantemente funcionais, estruturais ou combinadas (DELANEY; PRICE; LAMB, 2014).

Diversos estudos demonstram que a presença de albuminúria está associada a pior prognóstico renal e cardiovascular, independentemente do valor absoluto da TFG. Indivíduos com TFG preservada, mas com albuminúria persistente, apresentam risco aumentado de progressão para estágios mais avançados da DRC, bem como maior incidência de eventos cardiovasculares, quando comparados àqueles sem albuminúria (LEVEY *et al.*, 2011). Dessa forma, a albuminúria deve ser interpretada como um marcador de risco sistêmico, e não apenas como um achado renal isolado.

Por outro lado, a redução da TFG na ausência de albuminúria pode refletir predominantemente perda funcional associada ao envelhecimento, a alterações hemodinâmicas ou a condições não glomerulares. Nesses casos, o risco de progressão pode ser distinto daquele observado em pacientes com redução concomitante da TFG e presença de albuminúria, reforçando a importância da avaliação integrada para a correta estratificação do risco clínico (KDIGO, 2013).

A classificação da doença renal crônica proposta pelas diretrizes internacionais baseia-se justamente nessa integração, combinando categorias de TFG (G1 a G5) com categorias de albuminúria (A1 a A3). Essa abordagem bidimensional permite estratificar os pacientes em diferentes níveis de risco para progressão da DRC, eventos cardiovasculares e mortalidade, orientando decisões clínicas, frequência de monitoramento e intensidade das intervenções terapêuticas (KDIGO, 2013). A Tabela 10 sintetiza essa interpretação integrada, evidenciando como diferentes combinações de TFG e albuminúria resultam em perfis prognósticos distintos.

Do ponto de vista clínico e laboratorial, a integração entre TFG e albuminúria reforça a necessidade de avaliação longitudinal, e não apenas pontual, da função renal. A persistência da albuminúria e a tendência de queda da TFG ao longo do tempo são indicadores mais robustos de progressão da doença do que medidas isoladas, devendo ser valorizadas na prática clínica e na pesquisa (TIETZ, 2014).

Assim, a interpretação integrada da TFG estimada e da albuminúria configura-se como a abordagem mais completa e biologicamente fundamentada para a avaliação da função renal, permitindo diagnóstico mais precoce, estratificação de risco mais acurada e melhor direcionamento das estratégias de prevenção e tratamento das doenças renais crônicas (KDIGO, 2013).

Tabela 10 – Interpretação integrada da TFG estimada e da albuminúria

TFG	Albuminúria	Interpretação
Normal	Ausente	Função preservada
Normal	Presente	Lesão renal inicial
Reduzida	Ausente	Redução funcional
Reduzida	Presente	DRC estabelecida
Muito reduzida	Presente	Alto risco

Fonte: Elaborado pelo autor com base em TIETZ, N. W. Fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

2.8 O rim como órgão metabólico e o perfil de aminoácidos na uremia

A (DRC) caracteriza-se não apenas pela redução progressiva da taxa de filtração glomerular, mas também por profundas alterações metabólicas sistêmicas. Entre essas alterações, destacam-se modificações relevantes no metabolismo e no perfil plasmático de aminoácidos, fenômeno classicamente descrito como perfil de aminoácidos na uremia. Esse perfil resulta da combinação de falhas na filtração e depuração renal, redução da capacidade de síntese e interconversão de aminoácidos e aumento do catabolismo proteico periférico, especialmente muscular (KDIGO, 2013).

O rim exerce papel central no metabolismo intermediário de aminoácidos, atuando como órgão biossintético e regulador. Além de filtrar e reabsorver aminoácidos, o rim participa ativamente da conversão metabólica de diversos compostos nitrogenados, incluindo a síntese de arginina a partir da citrulina e a hidroxilação da fenilalanina em tirosina. Assim, a perda progressiva da função renal compromete não apenas a depuração de metabólitos potencialmente tóxicos, mas também a homeostase aminoacídica sistêmica (TIETZ, 2014).

2.8.1 Alterações globais do perfil de aminoácidos na DRC

Em pacientes com DRC, particularmente nos estágios avançados e em hemodiálise, observa-se um padrão característico de desequilíbrio entre aminoácidos essenciais (EAA) e não essenciais (NEAA). De modo geral, os aminoácidos essenciais — como valina, leucina e isoleucina — apresentam concentrações plasmáticas reduzidas. Essa redução decorre da combinação entre ingestão alimentar insuficiente, aumento do catabolismo proteico muscular, inflamação crônica e perdas diretas durante o procedimento dialítico (KALANTAR-ZADEH *et al.*, 2015).

Em contraste, diversos aminoácidos não essenciais tendem a apresentar concentrações elevadas na uremia, refletindo falha na depuração renal e alterações metabólicas sistêmicas. Nesse contexto, a razão entre aminoácidos essenciais e não essenciais tem sido amplamente utilizada como marcador bioquímico do estado nutricional e metabólico em nefrologia, sendo associada ao risco de desnutrição proteico-energética, inflamação e pior prognóstico clínico (BERGSTRÖM; LINDHOLM, 1998).

2.8.2 O eixo Arginina–Citrulina–Óxido Nítrico: papel central do rim

Entre os diversos eixos metabólicos afetados na DRC, destaca-se o eixo Arginina–Citrulina–Óxido Nítrico (NO), de particular relevância para estudos que envolvem a enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), codificada pelo gene NOS3. Em condições fisiológicas, a citrulina produzida principalmente no intestino delgado é captada pelos rins, onde é convertida em arginina por meio das enzimas argininosuccinato sintetase e argininosuccinato liase. Essa arginina renalmente sintetizada constitui uma fonte essencial para a produção sistêmica de óxido nítrico (TIETZ, 2014).

Na DRC, a perda da massa funcional renal compromete essa conversão, resultando em acúmulo plasmático de citrulina e redução da biodisponibilidade de arginina. Embora a arginina possa ser obtida pela dieta e pela degradação proteica, a falha da síntese renal assume papel crítico, especialmente em estados catabólicos e inflamatórios, como observado na uremia (FLISER *et al.*, 2005).

A redução da disponibilidade de arginina tem consequências diretas sobre a função endotelial. A eNOS, na ausência de substrato adequado, pode sofrer desacoplamento funcional, passando a produzir espécies reativas de oxigênio em vez de óxido nítrico. Esse mecanismo contribui para estresse oxidativo, disfunção endotelial, aumento da rigidez vascular e

progressão da doença cardiovascular, altamente prevalente em pacientes renais crônicos (VALLANCE; LEIPER, 2004).

2.9 Aminoácidos-chave no contexto da uremia

2.9.1 Citrulina

A citrulina é considerada marcador indireto da massa funcional dos enterócitos e precursor renal obrigatório da arginina. Em pacientes com DRC, seus níveis plasmáticos elevam-se de forma significativa, refletindo falha na conversão renal. A elevação da citrulina, portanto, não deve ser interpretada como indicador de reserva funcional adequada, mas sim como sinal de disfunção metabólica renal (CURTIS *et al.*, 2019).

2.9.2 Arginina

A arginina é o substrato direto da NOS3 para a produção de óxido nítrico. Na uremia, ocorre uma deficiência relativa de arginina funcional, mesmo quando seus níveis plasmáticos totais não estão drasticamente reduzidos, devido à competição com inibidores endógenos da NOS, como a dimetilarginina assimétrica (ADMA). Esse cenário agrava a disfunção endotelial e potencializa o risco cardiovascular (BÖGER, 2003).

2.9.3 Homocisteína

A homocisteína é um aminoácido sulfurado cuja depuração renal é limitada na DRC, resultando em hiper-homocisteinemia, condição altamente prevalente em pacientes urêmicos. A homocisteína exerce efeitos pró-oxidantes, pró-inflamatórios e pró-trombóticos sobre o endotélio, sendo considerada fator de risco independente para doença cardiovascular e progressão da nefropatia (PERNA *et al.*, 2019).

2.9.4 Taurina

A taurina desempenha funções antioxidantes, osmoprotetoras e moduladoras da função mitocondrial. Em pacientes com DRC e, especialmente, em hemodiálise, seus níveis costumam estar reduzidos, em parte devido à perda dialítica e à ingestão dietética insuficiente. A depleção de taurina pode contribuir para aumento do estresse oxidativo e comprometimento da função vascular (SPITZER *et al.*, 2004).

3.0 Impacto da hemodiálise no perfil de aminoácidos

A hemodiálise, embora essencial para a remoção de toxinas urêmicas, acentua alterações no perfil aminoacídico. Durante o procedimento, ocorre perda significativa de aminoácidos livres através da membrana dialítica, contribuindo para a redução dos aminoácidos essenciais e agravamento do estado catabólico. Além disso, o processo dialítico induz resposta inflamatória aguda, que intensifica a degradação proteica muscular (KALANTAR-ZADEH *et al.*, 2015).

Esses efeitos tornam particularmente relevante a avaliação do perfil de aminoácidos em pacientes dialíticos, tanto como marcador metabólico quanto como possível elo mecanístico entre disfunção renal, inflamação, desnutrição e risco cardiovascular (PERNA *et al.*, 2019).

3.1 Integração com estudos de polimorfismos da NOS3

No contexto de estudos genéticos envolvendo polimorfismos da **NOS3**, a análise do perfil de aminoácidos, especialmente do eixo arginina–citrulina, oferece base biológica robusta para a interpretação dos resultados. Alterações genéticas que afetam a expressão ou a atividade da eNOS podem ter seus efeitos amplificados em um ambiente metabólico caracterizado por baixa biodisponibilidade de arginina, acúmulo de citrulina, hiper-homocisteinemia e estresse oxidativo, como observado na uremia (ZOCCALI *et al.*, 2020; LONDON *et al.*, 2018).

Dessa forma, a integração entre genética, metabolismo de aminoácidos e função renal permite uma abordagem mais completa da fisiopatologia vascular na DRC, fortalecendo a interpretação translacional dos achados experimentais e clínicos (ZOCCALI *et al.*, 2020; LONDON *et al.*, 2018).

3.2 Disfunção endotelial: fundamentos teóricos

A disfunção endotelial é caracterizada pela perda do equilíbrio funcional do endotélio vascular, resultando na redução da biodisponibilidade de mediadores vasodilatadores, especialmente o óxido nítrico (NO), e no aumento relativo de fatores vasoconstritores, pró-inflamatórios e pró-trombóticos. O endotélio saudável desempenha papel central na regulação do tônus vascular, na homeostase hemostática, na modulação da resposta inflamatória e na manutenção da integridade da parede vascular, sendo sua disfunção considerada um evento

inicial no desenvolvimento das doenças cardiovasculares (VALLANCE & CHAN, 2001; DEANFIELD *et al.*, 2007).

Nesse contexto, o NO destaca-se como o principal mediador da função endotelial, atuando como potente vasodilatador e exercendo efeitos anti-inflamatórios, antiproliferativos e antitrombóticos (VALLANCE & CHAN, 2001; DEANFIELD *et al.*, 2007).

A síntese endotelial de NO ocorre a partir da L-arginina, catalisada pela óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), cuja atividade é rigidamente regulada por estímulos mecânicos, como o estresse de cisalhamento, e por fatores metabólicos e inflamatórios. Alterações nesse sistema, incluindo a redução da expressão da eNOS, a limitação de substratos e cofatores ou o desacoplamento enzimático induzido pelo estresse oxidativo, resultam em diminuição da produção de NO e aumento concomitante da geração de espécies reativas de oxigênio, aprofundando o quadro de disfunção endotelial (FÖRSTERMANN *et al.*, 2017; VANHOUTTE *et al.*, 2017).

Na DRC, a disfunção endotelial é altamente prevalente e se manifesta precocemente, agravando-se com a progressão da perda da função renal. Pacientes com DRC apresentam inflamação crônica de baixo grau, aumento do estresse oxidativo, retenção de toxinas urêmicas e elevação de inibidores endógenos da síntese de NO, como a dimetilarginina assimétrica (ADMA), fatores que contribuem de forma integrada para a redução da biodisponibilidade do NO e para o comprometimento da função vascular (ROUMELIOTIS *et al.*, 2020; VLAGOPOULOS & TIGHIOUART, 2021).

Em pacientes submetidos à hemodiálise, mecanismos adicionais contribuem para o agravamento da disfunção endotelial. As flutuações volêmicas repetidas, a ativação recorrente do sistema imune, a bioincompatibilidade relativa das membranas dialíticas e a exposição intermitente ao estresse oxidativo intensificam o comprometimento da função endotelial. Evidências clínicas demonstram que, nessa população, a disfunção endotelial está fortemente associada ao aumento da morbimortalidade cardiovascular, consolidando-se como um dos principais determinantes fisiopatológicos da elevada carga cardiovascular observada na DRC em estágio terminal (ZOCCALI *et al.*, 2020; LONDON *et al.*, 2018).

Do ponto de vista molecular, a disfunção endotelial na DRC não resulta apenas de alterações ambientais e metabólicas, mas reflete também a interação com fatores genéticos que modulam a via do óxido nítrico. Variações em genes envolvidos na síntese, regulação e biodisponibilidade do NO, particularmente no gene da (NOS3), têm sido associadas à heterogeneidade interindividual da resposta vascular e à susceptibilidade ao dano endotelial.

Polimorfismos funcionais do NOS3 podem influenciar a expressão da eNOS, a eficiência catalítica da enzima e a resposta ao estresse oxidativo, modulando não apenas o risco cardiovascular, mas também os perfis metabólicos associados à via do NO em indivíduos com DRC e em hemodiálise (SANDRIM *et al.*, 2018).

Nesse cenário, torna-se cada vez mais evidente que os efeitos funcionais dessas variações genéticas podem não se expressar de maneira consistente por meio de parâmetros clínicos convencionais (SANDRIM *et al.*, 2018).

Ao contrário, estudos recentes sugerem que biomarcadores metabólicos intermediários, incluindo metabólitos relacionados à via do NO e perfis de aminoácidos, representam ferramentas mais sensíveis para captar a interação entre predisposição genética, disfunção endotelial e ambiente urêmico (TOUSOULIS *et al.*, 2022). Essa perspectiva fornece a base conceitual para a análise dos polimorfismos do gene NOS3 no contexto da Doença Renal Crônica, tema abordado na seção subsequente.

3.2 Polimorfismos do gene NOS3, metabolismo do óxido nítrico e Doença Renal Crônica

A DRC é uma condição multifatorial caracterizada por alterações progressivas que envolvem inflamação crônica, estresse oxidativo, distúrbios metabólicos e disfunção endotelial. Entre os mecanismos fisiopatológicos implicados na progressão da DRC e no aumento expressivo do risco cardiovascular observado nessa população, destaca-se a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), mediador essencial da homeostase vascular e renal (SANDRIM *et al.*, 2018).

A síntese endotelial de NO depende da atividade do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), enzima codificada pelo gene NOS3, cuja expressão e funcionalidade podem ser moduladas por variações genéticas (MEDINA *et al.*, 2018).

O gene NOS3 está localizado no cromossomo 7 (7q36.1), possui 26 éxons e codifica uma proteína de aproximadamente 1.203 aminoácidos. A eNOS é expressa predominantemente no endotélio vascular, incluindo o endotélio renal, onde exerce papel fundamental na regulação do tônus vascular glomerular, na modulação da natriurese, na manutenção do fluxo sanguíneo renal e na proteção contra processos inflamatórios e trombóticos. Alterações genéticas que afetem a estrutura, a expressão ou a atividade dessa enzima podem, portanto, repercutir de forma significativa na fisiopatologia renal e cardiovascular, especialmente em indivíduos com DRC, nos quais a via do NO já se encontra funcionalmente comprometida (MEDINA *et al.*, 2018). A estrutura do gene está representada na figura 1.

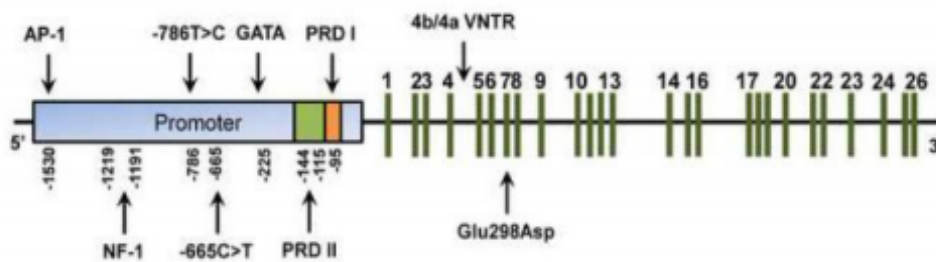


Figura 1: Gene NOS3 (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANUS-SANTOS, 2016).

Diversos polimorfismos funcionais do gene NOS3 foram descritos ao longo das últimas décadas, sendo os mais amplamente investigados o polimorfismo $-786T>C$ (rs2070744), localizado na região promotora do gene; o polimorfismo Glu298Asp (G894T; rs1799983), localizado no éxon 7; e o polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) de 27 pares de bases no íntron 4, conhecido como 4b/a. Essas variantes genéticas diferem quanto à sua localização no gene e aos mecanismos moleculares pelos quais interferem na expressão e na atividade da eNOS, mas compartilham o potencial de reduzir a produção de NO e favorecer a disfunção endotelial (MEDINA *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2014).

O polimorfismo Glu298Asp consiste em uma substituição de nucleotídeo (guanina por timina) no éxon 7 do gene NOS3, resultando na troca do aminoácido glutamato por aspartato na posição 298 da proteína eNOS. Essa alteração estrutural ocorre em uma região funcionalmente relevante da enzima, próxima ao domínio oxidase, responsável pela ligação da L-arginina e do cofator tetraidrobiopterina (BH_4). Estudos bioquímicos demonstram que essa substituição torna a proteína mais suscetível à clivagem proteolítica, reduzindo sua estabilidade e eficiência catalítica, o que culmina em menor produção de NO (MEDINA *et al.*, 2018).

Do ponto de vista clínico e epidemiológico, o polimorfismo Glu298Asp tem sido associado a diversas condições caracterizadas por disfunção endotelial, incluindo hipertensão arterial, doença arterial coronariana, nefropatia diabética e progressão da doença renal crônica. Na DRC, múltiplos estudos observacionais demonstraram associação entre o alelo T (Asp) e maior susceptibilidade à progressão para doença renal terminal. A meta-análise conduzida por Zhu *et al.* (2014), que incluiu mais de 850 pacientes com doença renal terminal e mais de 1.100 controles, demonstrou associação significativa entre o alelo T e o risco de doença renal terminal, sugerindo que essa variante genética constitui um importante fator de predisposição em diferentes populações (MEDINA *et al.*, 2018).

O polimorfismo VNTR 4b/a do íntron 4 caracteriza-se pela presença de duas variantes alélicas principais: o alelo 4b, considerado a forma mais comum, contendo cinco repetições de 27 pares de bases, e o alelo 4a, menos frequente, contendo quatro repetições. Embora esse polimorfismo não altere diretamente a sequência codificadora da proteína, evidências experimentais indicam que ele exerce influência regulatória sobre a expressão do gene NOS3. Estudos demonstram que o alelo 4a está associado à produção de pequenos RNAs interferentes derivados da sequência repetitiva, os quais podem reduzir a expressão do gene e, conseqüentemente, a síntese da eNOS (MEDINA *et al.*, 2018).

Em termos funcionais, indivíduos portadores do alelo 4a apresentam níveis circulantes mais baixos de NO e de seus metabólitos, quando comparados aos portadores do alelo 4b. Na DRC, essa redução adicional da biodisponibilidade de NO pode exacerbar a disfunção endotelial já existente, contribuindo para a progressão da doença renal e para o aumento do risco cardiovascular (MEDINA *et al.*, 2018).

A meta-análise de Zhu *et al.* (2014) demonstrou que o alelo 4a está significativamente associado ao risco de doença renal terminal, reforçando seu papel como marcador genético de susceptibilidade.

O polimorfismo -786T>C, localizado na região promotora do gene NOS3, interfere diretamente na regulação transcricional do gene. A substituição da timina por citosina nessa posição reduz a atividade do promotor em aproximadamente 50%, levando à diminuição da expressão da eNOS. Mecanicamente, esse polimorfismo pode alterar a ligação de fatores de transcrição, como a proteína replicadora A1, comprometendo a transcrição do gene (MEDINA *et al.*, 2018).

Entretanto, apesar de sua relevância funcional, os estudos que investigaram a associação do polimorfismo -786T>C com a DRC e com a doença renal terminal apresentam resultados inconsistentes. A meta-análise de Zhu *et al.* (2014) não identificou associação significativa entre essa variante e o risco de doença renal terminal na população global, sugerindo que seu impacto pode depender de fatores étnicos, ambientais ou da interação com outros polimorfismos do gene NOS3.

De maneira integrada, as evidências disponíveis indicam que os polimorfismos Glu298Asp e VNTR 4b/a apresentam associações mais consistentes com a progressão da (DRC) e com o desenvolvimento da doença renal terminal, enquanto os achados relativos ao polimorfismo -786T>C permanecem controversos. Importante destacar que, na DRC, os efeitos dessas variantes genéticas não se manifestam de forma isolada, mas interagem com o

ambiente urêmico, caracterizado por inflamação crônica, estresse oxidativo, aumento de inibidores endógenos da eNOS e profundas alterações no metabolismo de aminoácidos (MEDINA *et al.*, 2018).

Nesse cenário, os polimorfismos do gene NOS3 devem ser compreendidos como moduladores da resposta metabólica e endotelial, cuja expressão funcional pode ser mais adequadamente capturada por fenótipos metabólicos intermediários, como os perfis de aminoácidos envolvidos na via arginina–citrulina–NO, especialmente em pacientes submetidos à hemodiálise. Essa abordagem permite uma compreensão mais refinada da heterogeneidade fenotípica observada na Doença Renal Crônica e oferece bases conceituais sólidas para a integração entre genética, metabolismo e disfunção endotelial.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a associação entre polimorfismos funcionais do gene da óxido nítrico sintase endotelial (NOS3) e assinaturas metabólicas plasmáticas de aminoácidos relacionadas à via do óxido nítrico, em adultos submetidos à hemodiálise crônica, considerando sua potencial implicação na disfunção endotelial.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Caracterizar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos funcionais do gene NOS3 (-786T>C e VNTR de 27 pares de bases no íntron 4) em adultos submetidos à hemodiálise crônica.

3.2.2 Comparar os perfis plasmáticos direcionados de aminoácidos entre os diferentes genótipos dos polimorfismos do NOS3, com ênfase nos aminoácidos envolvidos na via arginina–citrulina–óxido nítrico.

3.2.3 Avaliar a associação entre os polimorfismos do NOS3 e marcadores laboratoriais relacionados ao metabolismo do óxido nítrico, incluindo nitrito plasmático.

3.2.4 Investigar a relação entre os polimorfismos do NOS3 e parâmetros clínicos, bioquímicos e hematológicos de rotina, incluindo indicadores de adequação dialítica.

3.2.5 Explorar se as associações genótipo-fenótipo são mais evidentes em assinaturas metabólicas do que em parâmetros clínicos convencionais, no contexto da hemodiálise crônica.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional, transversal e de caráter exploratório, desenvolvido com o objetivo de investigar associações entre polimorfismos funcionais do gene NOS3 e assinaturas metabólicas plasmáticas de aminoácidos em pacientes adultos submetidos à hemodiálise crônica. A escolha do delineamento transversal fundamenta-se na natureza exploratória da investigação e na escassez de estudos prévios que integrem genética, metabolismo e disfunção endotelial em populações com (DRC) em estágio terminal (Mann, 2003; HULLEY et al., 2015)

Reconhece-se que esse delineamento não permite inferências causais, limitando-se à identificação de associações genótipo-fenótipo em um ponto específico no tempo. No entanto, tal abordagem é adequada para a geração de hipóteses e para a caracterização de fenótipos metabólicos intermediários potencialmente associados à variabilidade genética da via do óxido nítrico (KADDURAH-DAOUK, et al, 2008).

4.2 População do estudo

A população do estudo foi composta por pacientes adultos com DRC em estágio terminal, em tratamento por hemodiálise de manutenção, acompanhados em serviço especializado. Foram incluídos indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, em hemodiálise regular, clinicamente estáveis no momento da coleta.

O recrutamento ocorreu em um único centro de terapia renal substitutiva de alto volume, a Clínica Politécnica Saúde Ultramed (Santa Maria, Distrito Federal, Brasil), um serviço privado de diálise credenciado pelas autoridades sanitárias regionais e que atua como uma das principais unidades de referência em nefrologia da região. O centro oferece hemodiálise três vezes por semana a uma ampla e clinicamente heterogênea população de pacientes, incluindo indivíduos com DRC de longa duração, elevada carga de comorbidades e perfis sociodemográficos diversos e condições que, em conjunto, configuram um cenário fisiologicamente rico para a investigação do metabolismo do óxido nítrico (NO) endotelial e de sua modulação genética.

Todos os indivíduos em hemodiálise de manutenção nessa unidade foram sistematicamente triados quanto à elegibilidade por nefrologistas e pela equipe de pesquisa. Foram considerados elegíveis participantes com idade ≥ 18 anos, diagnóstico de doença renal crônica estágio 5D e em tratamento com hemodiálise convencional com bicarbonato por, no mínimo, três meses consecutivos — critério adotado para assegurar estabilização metabólica, inflamatória e hemodinâmica, reduzindo potenciais fatores de confusão associados ao período inicial de adaptação à diálise. O recrutamento ocorreu durante as sessões rotineiras de hemodiálise, possibilitando a inclusão de uma coorte representativa quanto à distribuição etária, tempo em diálise, tipo de acesso vascular e panorama de comorbidades.

Todos os voluntários apresentaram capacidade cognitiva para compreender e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão incluíram analfabetismo, dependência ativa de álcool ou drogas ilícitas e quaisquer condições que comprometessem a adesão ao estudo. Essa estratégia de recrutamento resultou em uma coorte clinicamente abrangente e metodologicamente homogênea, permitindo comparações robustas entre pacientes em hemodiálise, expostos a estresse oxidativo, disfunção endotelial, desregulação do metabolismo nitrogenado e circulação extracorpórea intermitente, e indivíduos saudáveis sem comprometimento renal.

A opção por incluir exclusivamente pacientes em hemodiálise visa reduzir a heterogeneidade relacionada aos diferentes estágios da DRC e aos distintos regimes terapêuticos, permitindo maior consistência na interpretação dos dados metabólicos e genéticos.

4.3 População / Amostra / Amostragem

Participantes da pesquisa portadores de (DRC), que se encontram em acompanhamento e tratamento de hemodiálise no seguinte local: Clínica Politécnica Saúde Ultramed – CL 416 lote G, Santa Maria – DF, que fazem tratamento a pelo menos 3 meses de terapia renal substitutiva.

Cálculo do tamanho amostral: Trata-se de um estudo transversal, descritivo e caso controle. Serão considerados 150 pacientes, com cálculo amostral que poderá: um nível de confiança de 95%, erro amostral de 10%, e a população estimada do DF de 3 milhões (IBGE,2020), com uma distribuição de resposta de 50%, o n° mínimo seria de 97 indivíduos, mas estimando-se possíveis perdas, o total a ser considerado serão 150 pessoas.

Critérios de inclusão:

Os participantes incluídos no estudo serão de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos, são indivíduos diagnosticados com (DRC) e que realizam hemodiálise há pelo menos 3 meses. Eles devem apresentar condições físicas, mentais, cognitivas e intelectuais adequadas para responder ao instrumento de coleta de dados. Além disso, é necessário que concordem voluntariamente em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o Termo de Guarda de Material Biológico para participar do estudo.

Critérios de exclusão

Foram excluídos pessoas que apresentavam condições potencialmente capazes de interferir de forma significativa nos perfis metabólicos avaliados, tais como: processos infecciosos agudos ou internação hospitalar recente; condições inflamatórias agudas no momento da coleta; incapacidade de fornecer consentimento informado.

Esses critérios foram adotados com o intuito de minimizar a influência de fatores agudos sobre as concentrações plasmáticas de aminoácidos e sobre os marcadores relacionados à via do óxido nítrico.

4.4 Coleta de dados

A coleta de dados ocorreu entre o período de Julho/2024 a Fevereiro de 2025, sendo realizados os seguintes procedimentos:

4.4.1 Caracterização Clínica e Sociodemográfica

Uma entrevista estruturada e a revisão de prontuários médicos foram utilizadas para coletar informações referentes à idade, sexo, nível de escolaridade, estado civil, local de residência, situação ocupacional/aposentadoria, presença de comorbidades como hipertensão arterial e diabetes mellitus, histórico familiar (hipertensão arterial e/ou diabetes mellitus), hábitos de vida (uso de tabaco, álcool e substâncias ilícitas), tempo em hemodiálise, tipo de acesso vascular (fístula arteriovenosa; cateter tunelizado ou não tunelizado) e etiologia da doença renal crônica (diabética, hipertensiva, intersticial, autoimune ou indeterminada). Essas variáveis foram posteriormente relacionadas às categorias genotípicas, com o objetivo de avaliar potenciais associações genótipo–fenótipo.

4.4.2 Coleta e Processamento de Amostras Biológicas

O sangue venoso periférico (10 mL) foi coletado imediatamente antes do início da sessão de hemodiálise, com o objetivo de minimizar alterações bioquímicas induzidas pelo circuito extracorpóreo. As amostras foram distribuídas em tubos contendo EDTA e em tubos com gel separador para soro, conforme as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). As frações de plasma, soro e sangue total foram prontamente processadas e armazenadas sob condições controladas de temperatura para posterior análise molecular e bioquímica.

4.2.3 Extração de DNA Genômico

O DNA genômico foi isolado a partir de leucócitos utilizando o **kit Invisorb Spin Blood Mini Kit (Invitex, Alemanha)**. A pureza e a concentração do DNA foram verificadas por espectrofotometria (NanoDrop™), sendo consideradas adequadas para as análises subsequentes as amostras que apresentaram razão $A_{260}/A_{280} \geq 1,8$. Após a extração, as amostras foram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização da genotipagem.

4.4.4 Genotipagem dos Polimorfismos do NOS3

A genotipagem dos polimorfismos do gene da (NOS3) foi realizada com o objetivo de investigar variantes genéticas funcionalmente relevantes na regulação da produção de óxido nítrico (NO) pelo endotélio vascular. O gene NOS3 desempenha papel central na homeostase vascular, uma vez que codifica a enzima responsável pela síntese do NO endotelial, molécula-chave na modulação do tônus vascular, da resposta inflamatória, da proliferação celular e da função antitrombótica. Alterações na expressão ou na atividade da eNOS podem comprometer a biodisponibilidade de NO e contribuir para a disfunção endotelial, fenômeno amplamente descrito na (DRC).

Foram selecionados dois polimorfismos do gene NOS3 com base em sua relevância funcional e em evidências prévias de associação com alterações cardiovasculares e renais: a variante $-786\text{T}>\text{C}$, localizada na região promotora do gene, e o polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) de 27 pares de bases, localizado no íntron 4. Ambas as variantes apresentam potencial para influenciar a expressão gênica da eNOS e,

consequentemente, a produção endógena de NO, sendo particularmente relevantes em contextos de disfunção endotelial associados à doença renal crônica avançada.

4.5 Polimorfismo NOS3 –786T>C (região promotora)

O polimorfismo –786T>C localiza-se na região promotora do gene NOS3 e está associado a alterações na atividade transcricional do gene, podendo resultar em menor expressão da eNOS. Para a genotipagem dessa variante, foi realizada a amplificação de um fragmento específico do DNA genômico por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Foram utilizados os seguintes oligonucleotídeos iniciadores (primers):

forward 5'-TGG AGA GTG CTG GTG TAC CCC A-3' e

reverse 5'-GCC TCC ACC CCC ACC CTG TC-3'.

As reações de PCR foram conduzidas em condições padronizadas, iniciando-se com uma etapa de desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida de 33 ciclos compostos por desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 63 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. Ao final dos ciclos, foi realizada uma etapa de extensão final a 72 °C por 10 minutos, assegurando a completa extensão dos fragmentos amplificados. O tamanho esperado do amplicon foi de 180 pares de bases (pb).

Após a amplificação, o produto de PCR foi submetido à digestão enzimática com a enzima de restrição MspI, em incubação a 37 °C por 90 minutos. A digestão diferencial dos fragmentos permitiu a discriminação dos genótipos com base nos padrões de fragmentação gerados. Os fragmentos resultantes foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta.

Os padrões de bandas observados permitiram a identificação dos genótipos:

- TT, caracterizado por fragmentos de 140 e 40 pb;
- CC, caracterizado por fragmentos de 90, 50 e 40 pb;
- TC, apresentando um padrão combinado dos fragmentos correspondentes aos alelos T e C.

4.6 Polimorfismo NOS3 íntron 4 VNTR (repetição de 27 pares de bases)

O polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR), localizado no íntron 4 do gene NOS3, consiste em um número variável de repetições de uma sequência de 27 pares de bases. Os alelos mais frequentemente descritos são o alelo 4a, contendo cinco repetições, e o alelo 4b, contendo quatro repetições. Na literatura, esses alelos também são comumente designados como alelo de inserção (I), correspondente ao alelo 4a, e alelo de deleção (D), correspondente ao alelo 4b, denominações que refletem a presença ou ausência relativa de uma repetição na sequência analisada.

Esse polimorfismo tem sido associado a variações na estabilidade do RNA mensageiro e na expressão da eNOS, podendo influenciar a biodisponibilidade de óxido nítrico.

Para a genotipagem dessa variante, foi realizada a amplificação do segmento contendo a região de repetição por PCR, utilizando os seguintes primers:

forward 5'-AGG CCC TAT GGT AGT GCC TT-3' e

reverse 5'-TCT CTT AGT GCT GTG GTC AC-3'.

As condições de amplificação incluíram uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 60 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 10 minutos. A diferenciação dos alelos foi realizada diretamente com base no tamanho dos fragmentos amplificados, dispensando a necessidade de digestão enzimática.

Os produtos de PCR apresentaram tamanhos de aproximadamente 420 pb para o alelo 4a (I), correspondente a cinco repetições, e 393 pb para o alelo 4b (D), correspondente a quatro repetições, permitindo a identificação dos genótipos I/I (4a/4a), I/D (4a/4b) ou D/D (4b/4b) por meio de eletroforese em gel de agarose.

4.7 Controle de qualidade e atribuição dos genótipos

Para assegurar a confiabilidade, a precisão e a reprodutibilidade dos resultados de genotipagem, cada ensaio incluiu controles positivos e negativos, permitindo a verificação da especificidade da amplificação e a detecção de eventuais contaminações. Amostras que apresentaram padrões de bandas ambíguos ou inconsistentes foram submetidas a nova extração de DNA e reamplificação, garantindo a correta atribuição dos genótipos.

A leitura e a atribuição dos genótipos foram realizadas de forma independente por dois analistas, sem conhecimento prévio dos dados clínicos ou metabólicos dos participantes. Eventuais discordâncias foram resolvidas por consenso, procedimento adotado para minimizar vieses de interpretação e reforçar o rigor metodológico da análise genética.

4.8 Exames laboratoriais bioquímicos, hematológicos e avaliação da via do óxido nítrico

A caracterização clínica e bioquímica dos participantes foi realizada por meio da análise de exames laboratoriais de rotina, obtidos a partir de amostras de sangue periférico coletadas conforme protocolos assistenciais padronizados do serviço de hemodiálise. Esses exames tiveram como finalidade descrever o estado metabólico, hematológico, inflamatório e funcional basal da população estudada, fornecendo um contexto bioquímico essencial para a interpretação integrada dos achados metabólicos e genéticos apresentados nas seções subsequentes da dissertação.

As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos apropriados para cada tipo de análise, processadas segundo os procedimentos operacionais do laboratório clínico responsável e analisadas por métodos automatizados validados, amplamente utilizados na prática laboratorial.

4.9 Avaliação hematológica

O hemograma completo foi realizado em sangue total por meio de analisadores hematológicos automatizados, baseados nos princípios de impedância elétrica e citometria de fluxo, permitindo a avaliação das séries eritrocitária, leucocitária e plaquetária. Foram analisados parâmetros como contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitários (volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de

hemoglobina corpuscular média), leucócitos totais e diferenciais, além da contagem de plaquetas.

Os valores de referência para hemoglobina em adultos situam-se, aproximadamente, entre 12,0 e 16,0 g/dL para mulheres e 13,0 e 18,0 g/dL para homens. A avaliação desses parâmetros permitiu a caracterização da anemia, condição altamente prevalente em pacientes com Doença Renal Crônica (DRC) em estágio avançado, bem como a identificação de possíveis alterações leucocitárias associadas ao estado inflamatório crônico.

5.0 Marcadores da função renal

A ureia sérica foi quantificada por método enzimático baseado na ação da urease, com leitura espectrofotométrica automatizada. Os valores de referência para adultos situam-se aproximadamente entre 15 e 45 mg/dL. Em indivíduos com DRC avançada, níveis elevados de ureia refletem o acúmulo de compostos nitrogenados e a eficiência relativa da terapia dialítica.

A cistatina C foi mensurada por método turbidimétrico automatizado, utilizando anticorpos específicos. Em adultos, os valores de referência situam-se, de modo geral, entre 0,56 e 0,99 mg/L. Esse marcador foi utilizado como parâmetro adicional de caracterização da função renal, uma vez que sua concentração é menos influenciada por massa muscular quando comparada à creatinina.

5.1 Determinação de nitrito e nitrato plasmáticos

A avaliação da via do óxido nítrico foi realizada por meio da dosagem indireta de seus metabólitos estáveis, nitrito e nitrato, em amostras de soro/plasma. A mensuração direta do óxido nítrico não é factível em sistemas biológicos devido à sua curta meia-vida e elevada reatividade, tornando necessária a quantificação de seus produtos de oxidação.

A dosagem de nitrito plasmático foi realizada por método colorimétrico baseado na reação de Griess, adaptada para execução automatizada. O método envolve a formação de um composto azoado corado, cuja absorvância é mensurada a 540 nm. A concentração de nitrito foi obtida por meio de curva de calibração construída com padrões de concentração conhecida, apresentando comportamento linear na faixa analítica de interesse. O limite de detecção do método situa-se na ordem de micromoles, sendo adequada para a avaliação de nitrito plasmático em condições fisiopatológicas.

A quantificação de nitrato plasmático foi realizada após etapa prévia de redução do nitrato a nitrito, utilizando enzima redutase específica, seguida da aplicação da reação de Griess. Entretanto, limitações analíticas relacionadas à reprodutibilidade e à linearidade do método, quando adaptado à automação, foram consideradas na interpretação dos resultados, motivo pelo qual a análise de nitrito foi priorizada como marcador indireto da via do óxido nítrico.

5.2 Perfil de Aminoácidos Plasmáticos (Metabolômica Direcionada)

O perfil de aminoácidos plasmáticos foi avaliado por meio de uma abordagem de metabolômica direcionada, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS). Essa metodologia é amplamente reconhecida pela elevada sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade na quantificação simultânea de metabólitos de baixa massa molecular em matrizes biológicas complexas, como o soro humano. A combinação da separação cromatográfica com a detecção por espectrometria de massas permite a identificação precisa dos aminoácidos e a quantificação confiável de suas concentrações plasmáticas, mesmo em contextos de profundas alterações metabólicas, como na (DRC).

As análises foram realizadas em amostras de soro previamente coletadas e armazenadas sob congelamento, seguindo protocolos padronizados de preparo e processamento, de modo a preservar a estabilidade dos metabólitos até o momento da análise. Os resultados foram expressos em micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$), possibilitando a comparação entre indivíduos e grupos genotípicos. Para fins de contextualização metabólica, os valores obtidos foram confrontados com intervalos de referência para adultos fornecidos pelo laboratório clínico responsável pelas análises, reconhecendo-se, entretanto, que pacientes com DRC em hemodiálise apresentam alterações metabólicas sistêmicas que podem deslocar significativamente esses parâmetros em relação à população geral.

O painel de aminoácidos analisado contempla um conjunto abrangente de metabólitos envolvidos em diferentes eixos fisiológicos, incluindo o metabolismo do nitrogênio, a bioenergética mitocondrial, o remodelamento da matriz extracelular, a resposta inflamatória e os mecanismos de sinalização celular. Essa abordagem ampla permite a caracterização detalhada do estado metabólico plasmático e fornece subsídios para a compreensão da heterogeneidade metabólica observada em pacientes submetidos à hemodiálise crônica.

No contexto desta dissertação, foi atribuída ênfase particular a aminoácidos diretamente relacionados à fisiopatologia da DRC e à via do óxido nítrico. A citrulina ocupa posição central nesse eixo, uma vez que sua conversão em arginina ocorre predominantemente nos rins.

Assim, alterações nos níveis plasmáticos de citrulina refletem tanto a perda da função renal quanto disfunções na via arginina–citrulina–óxido nítrico, sendo consideradas marcadores metabólicos sensíveis da disfunção endotelial associada à DRC.

A arginina e a ornitina, também incluídas no painel analítico, integram o ciclo da ureia e participam diretamente da síntese de óxido nítrico. A avaliação conjunta desses aminoácidos permite uma análise mais refinada do metabolismo nitrogenado e da funcionalidade da via do NO do que a mensuração isolada de marcadores clínicos ou laboratoriais convencionais.

A glutamina e o glutamato representam componentes fundamentais do metabolismo intermediário, desempenhando papéis centrais na homeostase ácido-base, na bioenergética mitocondrial e na modulação da resposta inflamatória. Alterações nas concentrações plasmáticas desses aminoácidos são frequentemente observadas em pacientes com DRC e refletem adaptações metabólicas complexas associadas à uremia e ao tratamento dialítico.

Foram também considerados aminoácidos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como a histidina, a glicina e a taurina, cuja participação em mecanismos de citoproteção e regulação do estresse oxidativo é particularmente relevante em contextos de inflamação crônica e disfunção endotelial. A análise desses metabólitos contribui para a compreensão do equilíbrio entre mecanismos de dano e de compensação metabólica em pacientes renais crônicos.

Os aminoácidos de cadeia ramificada, incluindo leucina, isoleucina e valina, foram avaliados em razão de seu papel na regulação da síntese proteica, na sinalização metabólica e no estado nutricional. A quantificação desses aminoácidos fornece informações adicionais sobre o metabolismo energético e proteico, além de possibilitar a exploração de interações entre variabilidade genética, inflamação e metabolismo celular.

Adicionalmente, aminoácidos associados ao metabolismo do colágeno e à dinâmica da matriz extracelular, como a prolina, a hidroxiprolina e a hidroxilisina, foram incluídos no painel analítico. Alterações nesses metabólitos podem refletir processos de remodelamento tecidual e fibrose, fenômenos frequentemente exacerbados na DRC avançada e potencialmente relacionados à progressão do dano vascular e renal.

A análise integrada do perfil de aminoácidos plasmáticos, por meio de metabolômica direcionada, permite a identificação de fenótipos metabólicos intermediários, capazes de captar

de forma sensível a interação entre o metabolismo urêmico, a disfunção endotelial e a variabilidade genética.

Dessa forma, o perfil de aminoácidos plasmáticos constitui um componente metodológico central desta dissertação, oferecendo uma base robusta para a interpretação das associações genótipo-fenótipo investigadas, especialmente no contexto dos polimorfismos do gene NOS3.

5.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com abordagem exploratória, considerando o delineamento transversal do estudo e o tamanho amostral disponível. Inicialmente, as variáveis contínuas foram avaliadas quanto à distribuição por meio de testes de normalidade apropriados. Em função da distribuição não normal observada para a maioria dos parâmetros metabólicos, os dados foram descritos utilizando medidas de tendência central e dispersão adequadas, e analisados por métodos não paramétricos.

As frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos do gene NOS3 foram determinadas por contagem direta. O Equilíbrio de *Hardy–Weinberg* (EHW) foi avaliado para cada polimorfismo por meio do teste do qui-quadrado, comparando-se as frequências genótípicas observadas com aquelas esperadas sob condições de equilíbrio populacional. O teste de *Hardy–Weinberg* foi empregado como ferramenta de controle de qualidade genética, com o objetivo de identificar possíveis desvios relacionados a erros de genotipagem, estratificação populacional ou viés de seleção. Valores de $p > 0,05$ foram considerados indicativos de concordância com o equilíbrio de *Hardy–Weinberg*.

Para a comparação dos perfis metabólicos e dos marcadores relacionados à via do óxido nítrico entre os diferentes grupos genóticos, foram utilizados testes não paramétricos, adequados à natureza dos dados e ao tamanho amostral. O teste de *Mann–Whitney* foi empregado para comparações entre dois grupos, enquanto o teste de *Kruskal–Wallis* foi utilizado quando aplicável para comparações entre três ou mais grupos genóticos.

Considerando o número elevado de comparações inerentes às análises metabólicas direcionadas, foi aplicada correção para múltiplas comparações pelo método de Holm, com o objetivo de reduzir o risco de erro do tipo I. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$), tanto para as análises primárias quanto após a correção.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software IBM *SPSS Statistics*, versão 29.0, e o ambiente estatístico R, empregando-se pacotes apropriados para a análise de dados genéticos e metabólicos. A utilização combinada dessas ferramentas visou garantir maior robustez analítica, reprodutibilidade dos resultados e flexibilidade na condução das análises estatísticas.

As análises tiveram caráter exploratório, não tendo sido realizado cálculo prévio de poder estatístico ou estimativa formal de tamanho de efeito, o que é reconhecido como uma limitação inerente ao delineamento do estudo. Dessa forma, os resultados devem ser interpretados como indicativos de associações potenciais, úteis para a geração de hipóteses e para o delineamento de investigações futuras com maior poder estatístico e desenho longitudinal.

5.4 Considerações Éticas

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília (CEP-FCE/UnB), conforme parecer substanciado nº **7.205.672**, vinculado ao CAAE **82068124.9.0000.8093** (ANEXO 1). O Comitê confirmou a conformidade do estudo com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde nº 466/2012 e nº 510/2016, bem como determinou que não seria necessária apreciação adicional pela CONEP.

Todos os participantes forneceram consentimento livre e esclarecido por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1) e autorizaram ou recusaram a guarda das amostras biológicas por meio do Termo de Autorização para Guarda e Uso de Material Biológico (APÊNDICE 2). A privacidade, a confidencialidade e o anonimato dos participantes foram rigorosamente assegurados ao longo de todas as etapas do estudo.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização sociodemográfica

O presente estudo caracterizou os perfis clínicos, sociodemográficos, bioquímicos, hematológicos e metabólicos de pacientes submetidos à hemodiálise crônica, com ênfase particular na distribuição e nos correlatos fenotípicos de dois polimorfismos distintos do gene NOS3: a variante de nucleotídeo único T-786C e o polimorfismo intrônico VNTR de 27 pares de bases.

As características gerais da população estudada estão apresentadas na Tabela 11, a qual evidencia a predominância de participantes do sexo masculino (57,8%) e a elevada carga de comorbidades, como hipertensão arterial (54,5%) e diabetes mellitus (33,8%). O acesso vascular por fístula arteriovenosa foi a modalidade mais frequentemente observada (77,9%), indicando uma coorte relativamente estável, com rotinas de hemodiálise bem estabelecidas.

Tabela 11 - Características Clínicas e Sociodemográficas da População do Estudo.

Variável	n	%
Sexo		
Masculino	89	57,8
Feminino	65	42,2
Comorbidades		
Hipertensão	84	54,5
Diabetes	52	33,8
Acesso Vascular		
Fístula Arteriovenosa	120	77,9
CVC Tunelizado	28	18,2
CVC Não tunelizado	6	3,9

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Para aprofundar a clareza interpretativa dos achados, os resultados são apresentados a seguir em duas seções principais, correspondentes a cada polimorfismo do gene NOS3 investigado.

5.2 NOS3 Íntron-4 VNTR (repetição de 27 pb)

5.2.1 Distribuição Genotípica

A distribuição dos genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3 está apresentada na Tabela 12, na qual o genótipo I/I foi o mais prevalente (50%), seguido de perto pelo genótipo heterozigoto I/D (44,8%) e pelo genótipo menos frequente D/D (5,2%).

As frequências genotípicas encontraram-se em conformidade com o equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ($\chi^2 = 2,26$; $p = 0,132$), indicando que a amostra é geneticamente estável e não estratificada em relação a esse locus.

5.2.2 Características Sociodemográficas

A comparação detalhada das variáveis sociodemográficas entre os genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3 está apresentada na Tabela 13. Não foram identificadas associações significativas para nenhum dos parâmetros avaliados, incluindo sexo, escolaridade, estado civil, religião, tipo de residência, situação ocupacional, aposentadoria ou idade (todos $p > 0,05$).

Tabela 12 - Frequências Genotípicas e Equilíbrio de Hardy-Weinberg para os Polimorfismos do NOS3.

Marcador genético	Genótipo n (%)	Qui-quadrado	Valor de p
NOS3 T-786C	TT: 36 (23.4)	35,10	< 0.001*
	TC: 110 (71.4)		
	CC: 8 (5.2)		
NOS3 27-bp VNTR	I/I: 77 (50.0)	2,26	0.132
	I/D: 69 (44.8)		
	D/D: 8 (5.2)		

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

A distribuição homogênea dessas variáveis entre os grupos genotípicos sugere que a variação do VNTR do NOS3 não reflete nem prediz padrões sociais, demográficos ou socioeconômicos nesta população em hemodiálise.

Tabela 13 – Variáveis sociodemográficas de acordo com os genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3 em pacientes em hemodiálise crônica

Variáveis	D/D n (%)	I/D n (%)	I/I n (%)	p-valor
Sexo				0,3943
Masculino	4 (4,5)	44 (49,4)	41 (46,1)	
Feminino	4 (6,2)	25 (38,5)	36 (55,4)	
Escolaridade				0,2566
Analfabeto	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (3,9)	
Ensino médio	1 (12,5)	23 (33,8)	21 (27,3)	
Ensino fundamental	6 (75,0)	44 (64,7)	51 (66,2)	
Ensino superior	1 (12,5)	1 (1,5)	2 (2,6)	
Estado civil				0,8914
Casado	4 (50,0)	33 (47,8)	37 (48,1)	
Divorciado	0 (0,0)	5 (7,2)	2 (2,6)	
Solteiro	3 (37,5)	23 (33,3)	28 (36,4)	
Viúvo	1 (12,5)	8 (11,6)	10 (13,0)	
Religião				0,6168
Católica	6 (75,0)	40 (58,8)	53 (68,8)	
Espírita	0 (0,0)	4 (5,9)	5 (6,5)	
Evangélica	2 (25,0)	24 (35,3)	19 (24,7)	
Residência				0,6224
Alugada	3 (37,5)	21 (30,4)	25 (32,5)	
Mora com familiares	0 (0,0)	2 (2,9)	0 (0,0)	
Própria	5 (62,5)	46 (66,7)	52 (67,5)	
Situação ocupacional				0,7505
Trabalhando	4 (50,0)	26 (37,7)	28 (36,4)	
Não trabalha	4 (50,0)	43 (62,3)	49 (63,6)	
Aposentado				0,5118
Sim	7 (87,5)	43 (62,3)	46 (59,7)	
Não	1 (12,5)	26 (37,7)	30 (39,0)	
Outro	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,3)	
Idade (anos) – mediana (IIQ)	59,87 (52,67–66,75)	59,55 (48,72–67,85)	55,24 (45,94–69,59)	0,5495

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.2.3 Características Clínicas

A tabela 14 apresenta a análise abrangente das variáveis clínicas. A distribuição das etiologias subjacentes da doença renal variando desde doença renal em estágio terminal de causa não especificada até nefropatias diabéticas e hipertensivas não apresentou diferenças relacionadas aos genótipos ($p = 0,9948$).

Da mesma forma, a prevalência de hipertensão arterial ($p = 0,2681$) e diabetes mellitus ($p = 0,9726$) não diferiu significativamente entre os grupos genotípicos. Os comportamentos relacionados ao estilo de vida, incluindo prática de atividade física, tabagismo, consumo de álcool e uso de substâncias ilícitas, também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

O tipo de acesso vascular apresentou tendência à diferença, porém sem alcançar significância estatística ($p = 0,0936$), sugerindo uma possível embora não confirmada tendência na distribuição do uso de cateter venoso central tunelizado entre os grupos genotípicos.

Tabela 14 – Variáveis Clínicas de Acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3

Variável	D/D	I/D	I/I	p-valor
Diagnóstico (n, %)				0,9948
Doença renal em estágio terminal	3 (37,5%)	14 (20,3%)	18 (23,4%)	
Lúpus eritematoso sistêmico	0 (0,0%)	1 (1,4%)	1 (1,3%)	
Nefropatia diabética tipo 1	0 (0,0%)	6 (8,7%)	8 (10,4%)	
Nefropatia diabética tipo 2	3 (37,5%)	23 (33,3%)	21 (27,3%)	
Nefropatia hipertensiva	2 (25,0%)	18 (26,1%)	23 (29,9%)	
Nefropatia intersticial crônica	0 (0,0%)	1 (1,4%)	1 (1,3%)	
Nefropatia lúpica	0 (0,0%)	1 (1,4%)	0 (0,0%)	
Outras causas	0 (0,0%)	3 (4,3%)	4 (5,2%)	
Síndrome nefrítica indeterminada	0 (0,0%)	2 (2,9%)	1 (1,3%)	
Acesso vascular (n, %)				0,0936
Fístula arteriovenosa (FAV)	5 (62,5%)	47 (68,1%)	47 (61,0%)	
Cateter venoso central tunelizado	2 (25,0%)	20 (29,0%)	30 (39,0%)	
Cateter venoso central não tunelizado	1 (12,5%)	2 (2,9%)	0 (0,0%)	
Hipertensão arterial (n, %)				0,2681
Não	4 (50,0%)	36 (52,2%)	30 (39,0%)	
Sim	4 (50,0%)	33 (47,8%)	47 (61,0%)	

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.2.4 Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos

Um amplo conjunto de medidas bioquímicas e hematológicas foi comparado entre os genótipos do VNTR, conforme detalhado na Tabela 15. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de ureia pré ou pós-diálise, na adequação dialítica de rotina (KT/V), nas concentrações de óxido nítrico, cistatina C, hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitários, diferencial leucocitário ou parâmetros plaquetários.

A única exceção foi a contagem de monócitos, que apresentou diferença modesta, porém estatisticamente significativa entre os genótipos ($p = 0,0397$). Esse achado isolado pode indicar uma sutil variação imunológica relacionada ao genótipo; entretanto, sua relevância clínica permanece incerta na ausência de alterações hematológicas mais amplas.

Tabela 15 – Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3

Variável	D/D	I/D	I/I	p-valor
Ureia (pré-diálise)	122,50 (106,75–155,00)	123,00 (105,00–139,00)	123,00 (101,00–143,00)	0,9431
Ureia (pós-diálise)	44,00 (28,00–65,25)	32,00 (22,00–40,00)	31,00 (20,00–41,00)	0,244
KT/V	1,44 (1,08–1,75)	1,58 (1,41–1,84)	1,56 (1,30–1,92)	0,4349
Óxido nítrico	79,40 (32,30–88,90)	55,10 (38,60–88,70)	55,45 (38,58–83,53)	0,8936
Cistatina C	5,33 (4,19–6,20)	7,05 (6,02–7,70)	6,61 (5,32–7,63)	0,0598
Eritrócitos	4,17 (3,71–5,05)	3,61 (3,20–4,18)	3,61 (3,09–4,09)	0,1808
Hemoglobina	11,40 (10,50–13,45)	11,00 (9,70–12,00)	10,50 (9,57–11,83)	0,3359
Hematócrito	35,55 (30,55–41,90)	33,10 (29,20–36,80)	32,20 (28,20–36,00)	0,4089
VCM	83,55 (82,15–88,10)	89,30 (85,40–93,20)	90,40 (86,20–92,50)	0,0572
HCM	27,55 (26,27–29,17)	29,70 (27,90–31,10)	30,10 (28,40–31,50)	0,0634
CHCM	32,20 (31,95–33,88)	33,20 (32,40–33,80)	33,00 (32,30–34,00)	0,6776
RDW	16,90 (15,75–18,25)	15,50 (14,30–16,50)	15,40 (14,60–16,70)	0,1419
Leucócitos	6.550 (6.075–7.250)	6.000 (5.200–7.500)	6.300 (5.300–7.800)	0,7076
Bastonetes	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,00)	N/A
Segmentados	0,54 (0,54–0,72)	0,64 (0,56–0,72)	0,62 (0,55–0,70)	0,6271
Eosinófilos	0,02 (0,02–0,03)	0,04 (0,02–0,05)	0,03 (0,02–0,05)	0,2777
Basófilos	0,01 (0,01–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	0,6691
Linfócitos típicos	0,25 (0,11–0,30)	0,23 (0,16–0,28)	0,25 (0,20–0,31)	0,249
Monócitos	0,12 (0,09–0,13)	0,07 (0,06–0,10)	0,08 (0,06–0,10)	0,0397
Plaquetas	193,50 (87,77–234,75)	210,00 (168,00–247,00)	206,00 (170,00–277,00)	0,4382
VPM (MPV)	10,45 (9,18–70,33)	9,40 (8,70–10,10)	9,40 (8,70–10,10)	0,3074

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.2.5 Perfil de Aminoácidos Plasmáticos

O perfil metabólico dos aminoácidos segundo os genótipos do VNTR, apresentado na tabela 16, revelou diferenças associadas ao genótipo em múltiplos analitos, centradas em vias de manejo do nitrogênio, proteostase e fluxo energético. As concentrações de citrulina ($p = 0,0007$), histidina ($p = 0,0081$), leucina ($p = 0,0441$), prolina ($p = 0,0149$) e glutamina ($p = 0,0482$) variaram entre os estratos genotípicos.

O heatmap (genótipo de referência I/D, Figura 2) resumiu os escores z por linha das concentrações médias, sobrepostos aos valores de p ajustados pelo método de Holm para comparações pareadas e ao valor global de p do teste de Kruskal–Wallis (anotado na célula de referência). Nenhum aminoácido atingiu significância global no teste de Kruskal–Wallis (todos $p \geq 0,05$), indicando que a dispersão geral entre os três genótipos não foi sustentada em nível global por linha. Entretanto, seis aminoácidos apresentaram contrastes pareados ajustados significativos em relação ao genótipo I/D asparagina, citrulina, glutamina, histidina, leucina e prolina evidenciando separações metabólicas focais que o teste global, mais conservador para múltiplos grupos, não detectou. As células identificadas como “ $n < 2$ ” indicam contrastes não testados devido ao pequeno número de indivíduos em determinados grupos genotípicos.

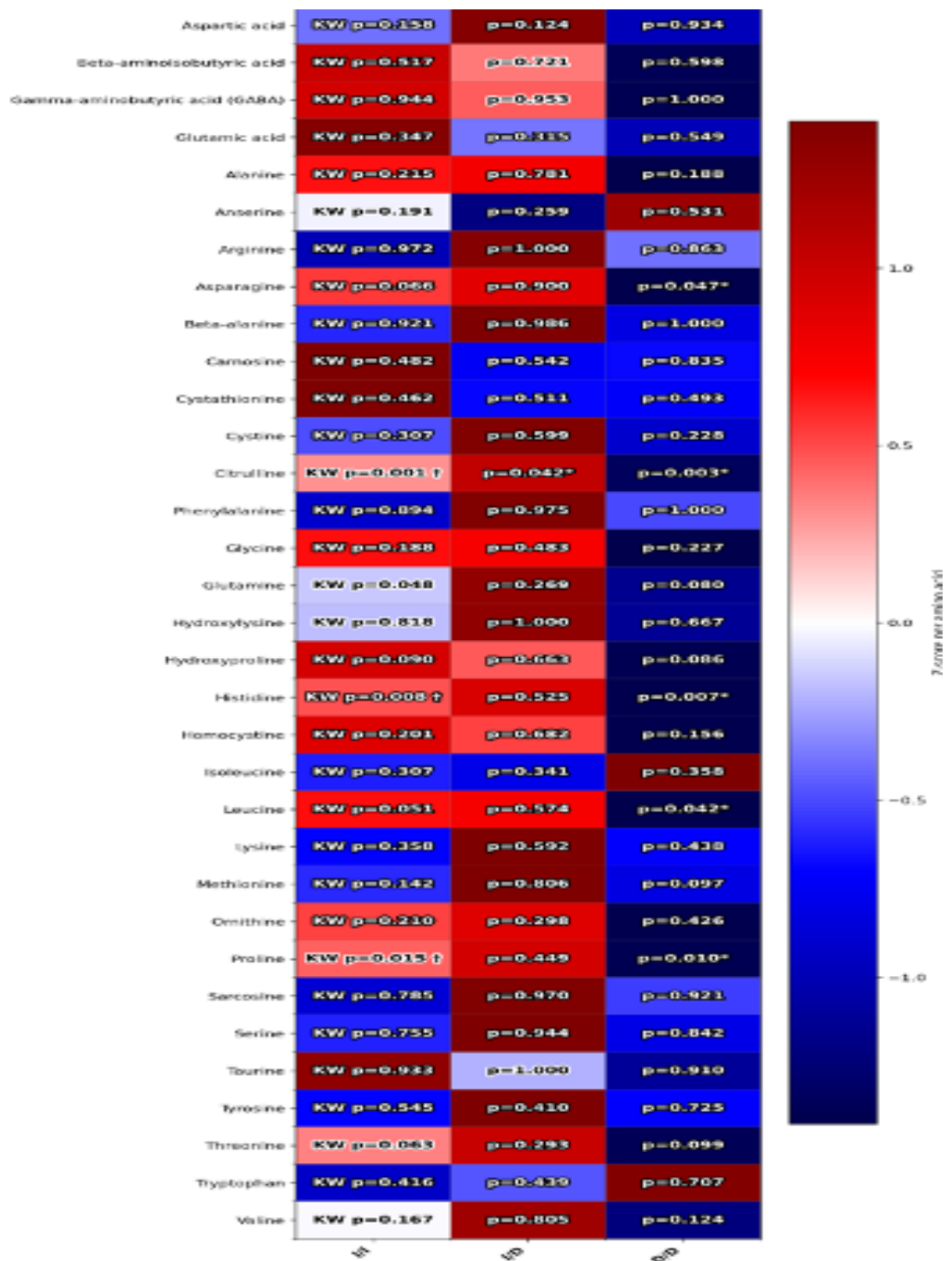
Esses achados recomendam cautela interpretativa, mas, em conjunto, delineiam uma assinatura metabólica modulada pelo VNTR. De modo geral, os resultados para o polimorfismo VNTR de 27 pb indicam que, embora as características sociodemográficas e clínicas permaneçam amplamente inalteradas pela variação genética, assinaturas metabólicas específicas podem ser moduladas pelo genótipo, merecendo investigação mecanística adicional.

Tabela 16 - Perfil de Aminoácidos de Acordo com os Genótipos do VNTR de 27 pb do gene NOS3

Aminoácido	D/D mediana (IIQ)	I/D mediana (IIQ)	I/I mediana (IIQ)	p-valor
Ácido aspártico	26,97 (19,38–32,80)	29,25 (22,59–36,84)	25,85 (20,52–31,98)	0,1579
β-aminoisobutírico	3,42 (2,82–11,43)	5,99 (3,62–12,96)	6,89 (3,70–14,92)	0,5170
GABA	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,6105
Ácido glutâmico	128,45 (113,30–137,56)	126,91 (101,83–144,19)	131,47 (104,53–163,71)	0,3474
Alanina	308,97 (239,73–370,59)	366,86 (307,88–422,44)	383,26 (302,85–444,81)	0,1894
Anserina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,1910
Arginina	124,03 (111,20–162,08)	128,24 (109,48–148,16)	126,94 (102,94–153,50)	0,9725
Asparagina	71,31 (53,34–83,76)	101,97 (79,38–134,01)	102,59 (83,46–133,82)	0,0660
β-alanina	1,33 (1,00–2,05)	1,44 (1,17–1,83)	1,50 (1,08–1,97)	0,9258
Carnosina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,5162
Cistationina	8,00 (5,25–11,38)	8,80 (5,90–12,20)	13,50 (9,70–36,52)	0,4615
Cistina	27,54 (20,53–35,65)	34,02 (23,66–45,81)	48,71 (25,00–48,71)	0,3068
Citrulina	41,15 (36,03–45,05)	75,45 (54,67–95,36)	79,51 (66,80–93,21)	0,0007
Fenilalanina	94,58 (90,63–119,00)	94,66 (78,23–112,93)	111,31 (79,28–392,02)	0,8943
Glicina	307,61 (248,84–378,92)	381,06 (310,27–457,98)	398,17 (308,69–566,27)	0,1878
Glutamina	339,64 (278,16–378,36)	401,04 (358,63–488,59)	440,64 (351,24–440,64)	0,0482
Hidroxilisina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,9430
Hidroxiprolina	31,95 (25,66–34,59)	48,88 (34,89–72,39)	54,55 (32,94–73,85)	0,0902
Histidina	51,38 (44,81–61,83)	73,73 (61,38–85,79)	70,64 (61,22–84,20)	0,0081
Homocistina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,06)	1,27 (1,00–1,27)	0,2112
Isoleucina	84,01 (71,66–98,02)	55,81 (43,27–103,12)	77,65 (60,71–111,19)	0,3073
Leucina	71,66 (32,51–98,02)	103,12 (89,34–134,64)	111,19 (89,73–140,41)	0,0441
Lisina	130,88 (88,23–203,34)	163,84 (131,29–197,11)	152,76 (128,08–178,97)	0,3580
Metionina	16,95 (10,52–20,78)	20,82 (18,28–24,46)	20,08 (17,41–27,71)	0,1425
Ornitina	72,10 (61,85–92,85)	95,55 (73,21–103,06)	88,31 (69,26–100,99)	0,2097
Prolina	203,19 (149,07–212,59)	277,71 (219,31–353,08)	334,58 (216,07–334,58)	0,0149
Sarcosina	1,54 (1,22–1,95)	1,64 (1,20–2,17)	2,10 (1,56–2,10)	0,7848
Serina	114,24 (109,27–123,29)	118,70 (101,79–137,03)	114,45 (97,55–137,81)	0,7552
Taurina	66,28 (53,18–77,26)	64,42 (55,43–87,53)	65,46 (52,36–87,02)	0,9332
Tirosina	42,09 (39,30–47,17)	43,97 (36,22–55,00)	55,69 (45,64–55,69)	0,5452
Treonina	75,42 (52,78–107,37)	114,38 (95,98–153,83)	114,11 (84,51–141,88)	0,0631
Triptofano	31,70 (26,98–37,61)	27,44 (21,74–33,10)	27,84 (23,13–34,36)	0,4344
Valina	138,77 (104,58–178,21)	172,14 (144,14–212,96)	175,41 (147,85–216,53)	0,1667

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Figura 2 - Mapa de Calor dos Aminoácidos por Genótipo (NOS3 VNTR de 27 pb)



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.2 Polimorfismo NOS3 T-786C

5.3.1 Distribuição Genotípica

Conforme apresentado na tabela 2, o polimorfismo NOS3 T-786C apresentou predominância do genótipo TC (71,4%), enquanto os genótipos TT e CC representaram 23,4% e 5,2% da amostra, respectivamente.

Observou-se um desvio significativo do equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ($\chi^2 = 35,10$; $p < 0,001$), o que pode refletir estratificação populacional, pressões seletivas ou características próprias do processo de amostragem desta coorte clínica.

5.3.2 Características Sociodemográficas

A avaliação das variáveis sociodemográficas em relação aos genótipos do T-786C está resumida na tabela 7. Assim como observado na análise do VNTR, não foram detectadas associações significativas entre os genótipos e nível de escolaridade, estado civil, filiação religiosa, tipo de moradia, situação ocupacional, aposentadoria ou idade (todos $p > 0,05$).

Esses achados reforçam que a variante T-786C não apresenta agrupamento segundo atributos sociodemográficos nesta população estudada.

Tabela 17 - Variáveis Sociodemográficas de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C

Variável	Categoria	CC	TC	TT	p-valor
Sexo	Masculino	4 (4,5%)	63 (70,8%)	22 (24,7%)	0,8295
	Feminino	4 (6,2%)	47 (72,3%)	14 (21,5%)	
Escolaridade	Analfabeto	0 (0,0%)	2 (1,8%)	1 (2,8%)	0,7031
	Ensino médio	1 (12,5%)	32 (29,4%)	12 (33,3%)	
	Ensino fundamental	7 (87,5%)	73 (67,0%)	21 (58,3%)	
Estado civil	Ensino superior	0 (0,0%)	2 (1,8%)	2 (5,6%)	0,2962
	Casado	6 (75,0%)	51 (46,4%)	17 (47,2%)	
	Divorciado	0 (0,0%)	7 (6,4%)	0 (0,0%)	
	Solteiro	2 (25,0%)	36 (32,7%)	16 (44,4%)	
Religião	Viúvo	0 (0,0%)	16 (14,5%)	3 (8,3%)	0,8613
	Católico	6 (75,0%)	72 (65,5%)	21 (60,0%)	
	Espírita	0 (0,0%)	6 (5,5%)	3 (8,6%)	
Residência	Evangélico	2 (25,0%)	32 (29,1%)	11 (31,4%)	0,5722
	Alugada	4 (50,0%)	36 (32,7%)	9 (25,0%)	
	Mora com familiares	0 (0,0%)	2 (1,8%)	0 (0,0%)	
Trabalha atualmente	Própria	4 (50,0%)	72 (65,5%)	27 (75,0%)	0,9755
	Sim	3 (37,5%)	42 (38,2%)	13 (36,1%)	
Aposentado	Não	5 (62,5%)	68 (61,8%)	23 (63,9%)	0,2442
	Sim	8 (100,0%)	66 (60,0%)	22 (61,1%)	
	Não	0 (0,0%)	43 (39,1%)	14 (38,9%)	
Idade (anos)	Outros	0 (0,0%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	0,8631
	Mediana (IIQ)	58,72 (52,73–61,52)	58,32 (45,87–68,98)	56,71 (49,24–66,57)	

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.3.3 Características Clínicas

Os parâmetros clínicos de acordo com os genótipos do NOS3 T-786C estão apresentados na tabela 18. Assim como observado nos resultados do VNTR, não foram identificadas diferenças significativas entre os genótipos quanto às etiologias da doença renal, ao tipo de acesso vascular ($p = 0,2026$), à presença de hipertensão arterial ($p = 0,5685$), ao diabetes mellitus ($p = 0,1456$), à prática de atividade física, ao tabagismo, ao consumo de álcool ou ao uso de substâncias ilícitas.

O tempo de permanência em hemodiálise também não apresentou variação significativa entre os grupos genotípicos.

Tabela 18 - Características Clínicas de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C

Variável	CC	TC	TT	p-valor
Diagnóstico				0,8416
Doença renal em estágio terminal	2 (25,0%)	24 (21,8%)	9 (25,0%)	
Lúpus eritematoso sistêmico	0 (0,0%)	2 (1,8%)	0 (0,0%)	
Nefropatia diabética tipo 1	1 (12,5%)	12 (10,9%)	1 (2,8%)	
Nefropatia diabética tipo 2	2 (25,0%)	35 (31,8%)	10 (27,8%)	
Nefropatia hipertensiva	2 (25,0%)	29 (26,4%)	12 (33,3%)	
Nefropatia intersticial crônica	0 (0,0%)	1 (0,9%)	1 (2,8%)	
Nefropatia lúpica	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,8%)	
Outras causas	1 (12,5%)	4 (3,6%)	2 (5,6%)	
Síndrome nefrítica indeterminada	0 (0,0%)	3 (2,7%)	0 (0,0%)	
Acesso vascular				0,2026
FAV	7 (87,5%)	73 (66,4%)	19 (52,8%)	
CVC tunelizado	1 (12,5%)	34 (30,9%)	17 (47,2%)	
CVC não tunelizado	0 (0,0%)	3 (2,7%)	0 (0,0%)	
Hipertensão				0,5685
Não	5 (62,5%)	48 (43,6%)	17 (47,2%)	
Sim	3 (37,5%)	62 (56,4%)	19 (52,8%)	
Diabetes				0,1456
Não	4 (50,0%)	78 (70,9%)	20 (55,6%)	
Sim	4 (50,0%)	32 (29,1%)	16 (44,4%)	
Atividade física				0,4466
Não	8 (100,0%)	92 (83,6%)	31 (86,1%)	
Sim	0 (0,0%)	18 (16,4%)	5 (13,9%)	
Tabagismo				0,0548
Não	7 (87,5%)	105 (95,5%)	30 (83,3%)	
Sim	1 (12,5%)	5 (4,5%)	6 (16,7%)	
Uso de álcool				0,3888
Não	8 (100,0%)	92 (84,4%)	27 (75,0%)	
Sim	0 (0,0%)	16 (14,7%)	9 (25,0%)	
Outros	0 (0,0%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	
Substâncias ilícitas				0,6145
Não	8 (100,0%)	107 (97,3%)	34 (94,4%)	
Sim	0 (0,0%)	3 (2,7%)	2 (5,6%)	
História familiar (HAS/DM)				0,4418
Não	5 (62,5%)	74 (67,3%)	20 (55,6%)	
Sim	3 (37,5%)	36 (32,7%)	16 (44,4%)	
Tempo em hemodiálise (anos)				0,4544
Mediana (IIQ)	6,50(3,00–9,00)	4,50 (2,00–7,00)	4,00 (2,00–7,00)	

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.3.4 Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos

Conforme detalhado na tabela 19, nenhum parâmetro bioquímico ou hematológico apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos genotípicos do T-786C. Os níveis de ureia, valores de KT/V, concentrações de óxido nítrico, cistatina C, índices eritrocitários e leucocitários, bem como a contagem de plaquetas, exibiram distribuições semelhantes entre os genótipos.

A contagem total de leucócitos apresentou tendência à significância ($p = 0,0606$), porém sem atingir o limiar estatístico, sugerindo uma possível inclinação que merece investigação adicional em amostras maiores

Tabela 19 - Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Acordo com os Genótipos do NOS3 T-786C

Variável	CC mediana (IIQ)	TC mediana (IIQ)	TT mediana (IIQ)	p-valor
Ureia (pré-diálise)	132,00 (123,00–143,50)	122,00 (101,00–139,75)	124,50 (112,75–145,00)	0,3843
Ureia (pós-diálise)	39,00 (23,50–53,75)	31,50 (22,00–41,75)	31,50 (19,50–40,25)	0,5377
KT/V	1,42 (1,08–1,83)	1,58 (1,36–1,84)	1,54 (1,41–1,98)	0,4433
Óxido nítrico	61,20 (54,55–71,60)	55,40 (37,60–88,00)	59,10 (44,48–91,10)	0,8816
Cistatina C	7,08 (6,25–7,42)	6,67 (5,38–7,83)	6,94 (5,45–7,38)	0,8230
Eritrócitos	3,52 (3,38–4,06)	3,70 (3,16–4,27)	3,63 (3,14–3,90)	0,6710
Hemoglobina	10,30 (9,28–11,40)	10,90 (9,70–12,20)	10,85 (9,85–11,65)	0,6858
Hematócrito	31,20 (29,62–35,17)	32,60 (28,52–36,80)	32,45 (30,15–35,40)	0,7939
VCM	87,85 (85,20–89,80)	89,12 (83,88–92,47)	91,00 (88,38–93,05)	0,1972
HCM	28,70 (27,00–29,60)	29,75 (27,90–31,18)	30,20 (28,98–31,62)	0,1053
CHCM	32,25 (32,08–32,92)	33,05 (32,30–33,90)	33,20 (32,52–33,88)	0,2635
RDW	15,90 (15,12–16,65)	15,45 (14,33–16,88)	15,50 (14,47–16,70)	0,6732
Leucócitos	7.600 (7.175–9.100)	6.300 (5.225–7.475)	6.000 (5.300–7.300)	0,0606
Bastonetes	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,00)	N/A
Segmentados	0,72 (0,66–0,75)	0,62 (0,53–0,70)	0,68 (0,59–0,69)	0,0765
Eosinófilos	0,03 (0,02–0,04)	0,03 (0,02–0,05)	0,04 (0,03–0,05)	0,2932
Basófilos	0,01 (0,01–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	0,4510
Linfócitos típicos	0,17 (0,15–0,20)	0,24 (0,18–0,31)	0,22 (0,18–0,26)	0,1228
Monócitos	0,07 (0,06–0,09)	0,08 (0,06–0,10)	0,07 (0,05–0,09)	0,5866
Plaquetas	242,50 (204,50–262,50)	198,00 (166,50–246,75)	225,50 (181,00–264,50)	0,2253
VPM (MPV)	9,35 (8,82–9,65)	9,40 (8,70–10,17)	9,35 (8,70–9,80)	0,5910

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

5.3.5 Perfil de Aminoácidos Plasmáticos

Os perfis de aminoácidos associados aos genótipos do T-786C, apresentados na tabela 20, revelaram diferenças genotípicas limitadas, porém relevantes. Em contraste com o VNTR, a divergência metabólica foi restrita, com carnosina ($p = 0,0292$) e hidroxilisina ($p = 0,0380$) apresentando variações significativas entre os genótipos.

Utilizando o genótipo TT como referência, o heatmap (Figura 3) não demonstrou sinais globais significativos pelo teste de *Kruskal–Wallis* para o conjunto dos aminoácidos, porém confirmou significância nos contrastes pareados ajustados pelo método de Holm para carnosina (TC e CC vs. TT). As comparações não significativas ou marcadas como “ $n < 2$ ” refletem o tamanho reduzido de alguns subgrupos ou ausência de separação metabólica consistente.

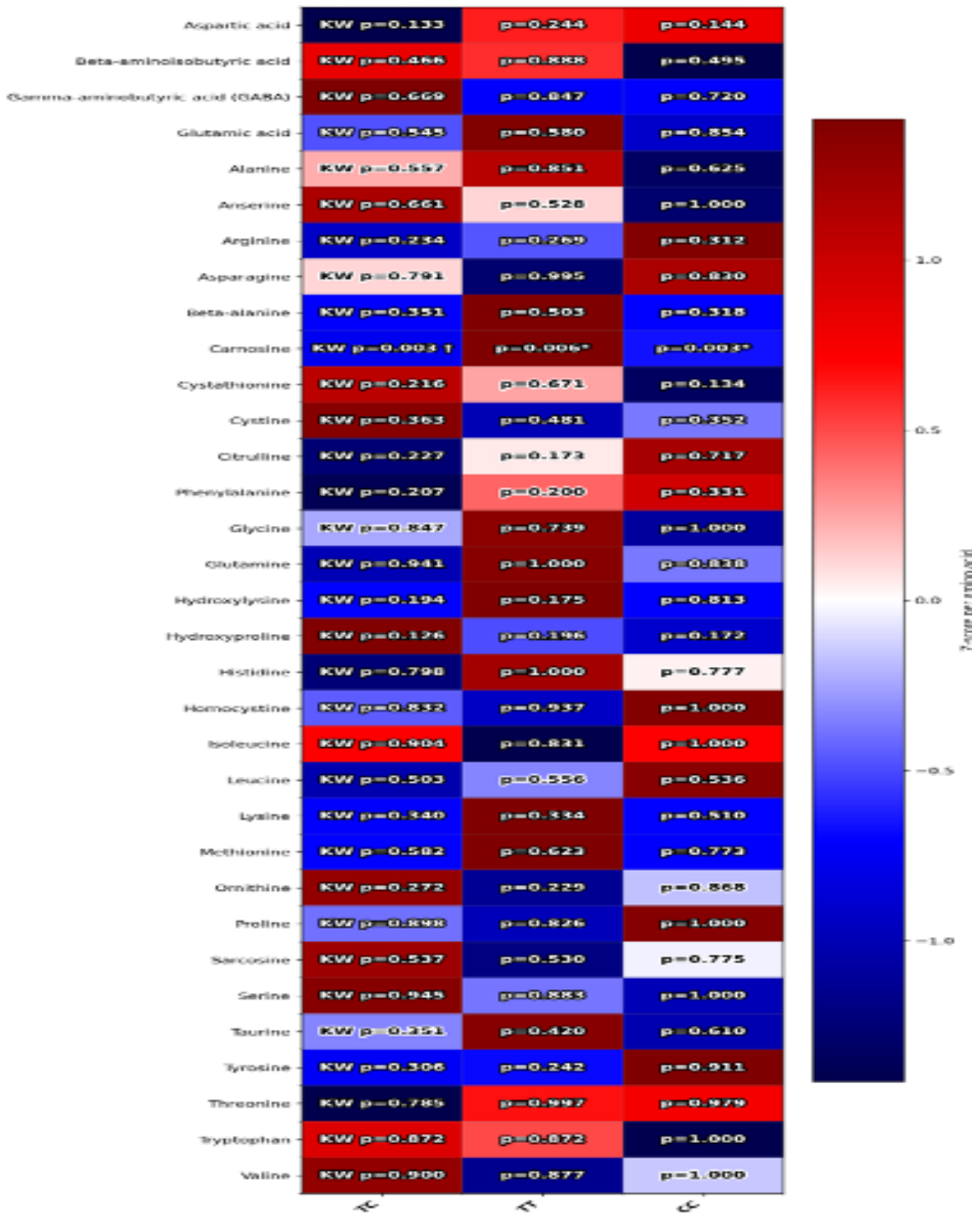
De forma geral, o polimorfismo T-786C mostrou-se clinicamente discreto, apresentando apenas inflexões metabólicas seletivas, sem repercussões amplas sobre o perfil bioquímico global.

Tabela 20 - Tabela de Aminoácidos do polimorfismo NOS3 T-786C

Aminoácido	CC mediana (IIQ)	TC mediana (IIQ)	TT mediana (IIQ)	p-valor
Ácido aspártico	33,53 (26,24–39,71)	26,85 (20,71–32,59)	29,27 (23,08–36,16)	0,1332
β-aminoisobutírico	5,05 (3,30–6,79)	6,61 (3,47–15,48)	7,22 (4,09–13,15)	0,4663
GABA	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,8172
Ácido glutâmico	126,54 (103,68–141,43)	127,33 (103,33–154,16)	131,89 (108,91–163,36)	0,5454
Alanina	335,10 (299,09–392,25)	369,67 (295,14–439,27)	372,92 (343,68–422,51)	0,5766
Anserina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,6610
Arginina	143,24 (133,23–155,69)	126,78 (101,92–147,75)	134,00 (111,31–155,38)	0,2344
Asparagina	110,62 (70,23–170,66)	104,06 (79,44–133,41)	94,68 (80,00–125,85)	0,7908
β-alanina	1,17 (1,04–1,60)	1,52 (1,16–1,96)	1,41 (1,00–1,72)	0,3627
Carnosina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,0292
Cistationina	6,00 (5,38–8,97)	9,30 (6,83–13,28)	9,20 (5,50–16,30)	0,2162
Cistina	37,56 (29,14–50,10)	33,41 (22,48–45,19)	36,55 (29,02–46,77)	0,3627
Citrulina	71,57 (53,79–80,41)	64,44 (48,69–83,47)	73,57 (53,99–91,09)	0,2265
Fenilalanina	105,30 (89,31–121,98)	92,00 (77,47–108,81)	97,02 (81,56–117,63)	0,2066
Glicina	370,90 (261,71–465,65)	375,19 (300,19–509,38)	392,44 (319,24–488,87)	0,8470
Glutamina	391,88 (361,89–497,90)	398,13 (340,26–452,02)	401,02 (351,43–465,99)	0,9406
Hidroxilisina	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	1,00 (1,00–1,00)	0,0380
Hidroxiprolina	32,45 (28,45–52,51)	53,65 (34,81–76,93)	41,02 (28,85–59,05)	0,1262
Histidina	65,53 (55,23–80,23)	71,24 (59,75–83,82)	71,52 (64,09–85,76)	0,7975
Homocistina	1,00 (1,00–1,16)	1,00 (1,00–1,25)	1,00 (1,00–1,00)	0,7910
Isoleucina	58,72 (49,84–70,86)	57,99 (44,25–76,66)	54,48 (42,72–76,43)	0,9038
Leucina	105,94 (89,98–142,72)	103,12 (88,46–131,65)	107,11 (85,16–138,24)	0,5370
Lisina	171,92 (132,03–202,31)	152,92 (122,58–185,25)	160,70 (138,69–189,57)	0,3399
Metionina	22,16 (18,47–22,96)	20,07 (16,72–25,45)	20,61 (18,21–26,95)	0,5821
Ornitina	96,19 (75,05–99,81)	91,20 (70,91–105,93)	87,00 (67,16–96,04)	0,2724
Prolina	295,27 (231,06–335,99)	262,80 (208,38–343,40)	255,38 (228,04–297,70)	0,8981
Sarcosina	1,43 (1,19–2,08)	1,64 (1,12–2,18)	1,51 (1,19–1,79)	0,5366
Serina	117,69 (100,93–131,00)	114,45 (99,11–137,73)	115,29 (98,87–130,00)	0,9451
Taurina	63,97 (47,95–79,59)	64,23 (53,47–82,89)	72,97 (56,62–95,46)	0,3511
Tirosina	46,60 (41,09–49,12)	44,35 (34,81–55,69)	48,09 (41,65–56,15)	0,3055
Treonina	110,22 (98,03–138,32)	112,44 (87,87–147,81)	117,45 (92,86–147,02)	0,7855
Triptofano	26,06 (21,02–32,23)	28,28 (22,58–34,13)	27,41 (23,25–32,78)	0,8665
Valina	178,17 (161,76–209,54)	171,33 (144,25–213,31)	173,06 (147,02–211,50)	0,9005

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Figura 3 - Mapa de Calor dos Aminoácidos por Genótipo (NOS3 T-786C)



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

O heatmap das concentrações médias de aminoácidos entre os genótipos do NOS3 T-786C (escores z por linha). O teste global de *Kruskal–Wallis* não revelou efeitos omnibus significativos. Os gradientes visuais representam apenas padrões relativos de concentração. Os valores de p ajustados pelo método de Holm comparam cada genótipo à categoria de referência (TT). A indicação “ $n < 2$ ” reflete tamanho amostral insuficiente para contrastes específicos. Assim como observado no mapa de calor do VNTR, esta figura sustenta a presença de diferenças metabólicas localizadas, sem evidenciar separação global entre os genótipos.

5.3.6 Síntese Integrada e Enquadramento Biológico

Ao analisar os dois loci do NOS3, observou-se que as variáveis sociodemográficas e os principais indicadores clínicos permaneceram consistentemente invariantes entre os genótipos, assim como a adequação dialítica e os painéis bioquímicos e hematológicos de rotina. Em contraste, o domínio metabólico, explorado por meio do perfil direcionado de aminoácidos, foi capaz de discriminar os genótipos do VNTR, evidenciando alterações em vias compatíveis com a produção endotelial de óxido nítrico (eixo citrulina/arginina), o transporte imune-nitrogênio (glutamina), o tamponamento oxidativo (histidina/carnosina) e o turnover de matriz e músculo (prolina, leucina, hidroxilisina).

O polimorfismo T-786C, apesar do desvio do equilíbrio de *Hardy–Weinberg*, apresentou menor separação metabólica, restrita à carnosina e à hidroxilisina, sem repercussões detectáveis nos parâmetros clínicos ou laboratoriais.

De forma conjunta, os dados sustentam um modelo no qual a variação intrônica do VNTR é metabolicamente expressiva em condições de hemodiálise crônica — contexto em que o estresse de cisalhamento endotelial, as toxinas urêmicas e o estresse oxidativo intermitente podem amplificar o acoplamento genótipo-fenótipo — enquanto os efeitos do promotor T-786C são mais circunscritos no mesmo cenário clínico.

Esses achados fornecem uma base mecanística e molecular para investigações futuras sobre a arquitetura regulatória da eNOS, a bioatividade downstream do óxido nítrico e os processos de remodelamento tecidual na doença renal crônica.

6 DISCUSSÃO

6.1 Visão Integrativa

No presente estudo, nenhum dos polimorfismos do gene NOS3 analisados apresentou associação significativa com características sociodemográficas, adequação dialítica ou parâmetros bioquímicos e hematológicos de rotina, incluindo ureia pré e pós-diálise, KT/V, cistatina C, índices eritrocitários e marcadores inflamatórios sistêmicos. Esses achados indicam que, nesta coorte de pacientes em hemodiálise crônica, a variabilidade genética do NOS3 não se expressa por meio de estratificação clínica convencional.

Esse padrão de resultados negativos é biologicamente plausível e coerente com a literatura, uma vez que pacientes com (DRC) em estágio terminal constituem uma população altamente homogênea do ponto de vista clínico, submetida a protocolos terapêuticos intensivos que tendem a atenuar diferenças interindividuais em parâmetros laboratoriais de rotina. Assim, embora os polimorfismos do NOS3 sejam funcionalmente relevantes, seus efeitos podem ser mascarados pelo ambiente urêmico, pela inflamação crônica e pela própria terapia dialítica.

Dessa forma, a ausência de associações clínicas diretas não deve ser interpretada como ausência de efeito biológico, mas como indicativa de que a expressão fenotípica da variabilidade genética do NOS3 pode ocorrer em domínios mais sensíveis da fisiologia vascular e metabólica.

Então, esse conjunto de achados converge com a visão ampliada de que a biologia do óxido nítrico (NO) endotelial frequentemente se expressa por efeitos subclínicos em nível de vias metabólicas em coortes com doença renal em estágio avançado, sem necessariamente modificar marcadores clínicos rotineiros, embora possa modular o risco cardiovascular e o metabolismo tecidual ao longo do tempo (RAI *et al.*, 2014; OLIVEIRA-PAULA *et al.*, 2016; COZMA *et al.*, 2019).

6.2 Frequências Genotípicas e Considerações sobre o Equilíbrio de Hardy–Weinberg

Os genótipos do VNTR de 27 pb estiveram em conformidade com o equilíbrio de Hardy–Weinberg (HWE) (ver Tabela 2), sugerindo ausência de forte seleção ou estratificação

populacional na amostra em hemodiálise, em concordância com estudos populacionais do VNTR do íntron 4 em diferentes ancestralidades (RAI *et al.*, 2014; SANTOVITO *et al.*, 2012).

Em contraste, o polimorfismo T-786C apresentou desvio do HWE (Tabela 2), um cenário frequentemente relatado em coortes clínicas avançadas, possivelmente refletindo viés de sobrevivência, recrutamento específico do centro ou seleção biológica atuando sobre a função promotora (BARBOSA *et al.*, 2017; ELAKKAD *et al.*, 2017; PATKAR *et al.*, 2021). Funcionalmente, o T-786C reduz a atividade do promotor do NOS3, com expressão graduada $TT > TC > CC$ em modelos endoteliais, resultando em menor biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) (ELAKKAD *et al.*, 2017; COZMA *et al.*, 2019).

Essas observações ressaltam a necessidade de replicação em coortes independentes de hemodiálise, com atenção explícita à estrutura populacional e ao controle de qualidade da genotipagem. Importante destacar que esta coorte representa uma população clinicamente selecionada de DRC estágio 5D, e não uma amostra comunitária; portanto, o desvio do HWE é um padrão esperado, provavelmente decorrente de viés de sobrevivência, pressões de seleção clínica e influências da própria doença sobre as frequências genotípicas. Assim, embora os achados do T-786C sejam interpretados com cautela, tal desvio não invalida as observações metabólicas exploratórias; além disso, o locus VNTR, em equilíbrio, reforça a robustez dos principais achados do estudo.

6.3 Domínios Sociodemográfico e Clínico: Padrão Nulo Robusto

Não emergiram diferenças genótipo-específicas em relação a sexo, idade, escolaridade, estado civil, afiliação religiosa, tipo de residência, situação laboral/aposentadoria, presença de hipertensão ou diabetes, diagnóstico etiológico da DRC, comportamentos de estilo de vida, tempo em hemodiálise ou tipo de acesso vascular (com sinal limítrofe para acesso no VNTR, $p \approx 0,09$; ver Tabelas 3–4 e 7–8).

Padrões nulos semelhantes têm sido relatados na literatura, nos quais variantes do NOS3, embora biologicamente ativas, não estratificam de forma consistente os marcadores clínicos rotineiros — especialmente em coortes dominadas por DRC avançada e hemodiálise, onde protocolos terapêuticos exógenos tendem a homogeneizar parâmetros clínicos e laboratoriais (OLIVEIRA-PAULA *et al.*, 2016; KRÓL-KULIKOWSKA *et al.*, 2024).

A ausência de estratificação clínica evidente também é coerente com meta-análises cardiovasculares, nas quais polimorfismos do NOS3 modulam risco mais do que apresentação clínica, com magnitudes de efeito dependentes da ancestralidade e penetrância variável (RAI *et al.*, 2014).

6.4 Índices Bioquímicos e Hematológicos: Predominantemente Negativos, com um Sinal Imunológico

Entre os genótipos, não foram observadas diferenças nos níveis de ureia pré e pós-diálise, KT/V, óxido nítrico (avaliado como nitrito/nitrato), cistatina C, índices eritrocitários ou parâmetros plaquetários (ver Tabelas 5 e 9); apenas a contagem de monócitos variou de acordo com o VNTR ($p \approx 0,04$; Tabela 5).

Esse achado é biologicamente plausível, uma vez que o óxido nítrico endotelial exerce papel regulador na adesão e transmigração leucocitária; assim, variações genótípicas no fluxo de NO podem modular sutilmente o tráfego de monócitos, sem necessariamente alterar outros índices hematológicos (SHU *et al.*, 2015; DAIBER *et al.*, 2019).

A análise dos metabólitos relacionados ao óxido nítrico demonstrou que os níveis circulantes de nitrito plasmático não diferiram significativamente entre os genótipos, tanto para o polimorfismo $-786T>C$ quanto para o VNTR de 27 pares de bases. Esse achado sugere que, no contexto sistêmico da hemodiálise, a produção ou a biodisponibilidade global de NO, inferida por marcadores circulantes, não reflete de forma direta a variabilidade genética da eNOS.

É importante considerar que o nitrito plasmático constitui um marcador indireto da atividade endotelial do NO e pode ser influenciado por múltiplos fatores extragenéticos, incluindo dieta, inflamação mediada por iNOS, depuração pelo dialisador e alterações no metabolismo renal residual (Tsikas, 2006; Tsikas, 2015). Assim, diferenças genótípicas sutis na regulação da eNOS podem permanecer não detectáveis quando avaliadas exclusivamente por medidas sistêmicas de NOx.

Esses resultados reforçam a limitação do uso isolado de marcadores circulantes de NO para capturar a complexidade da regulação endotelial em pacientes com DRC avançada, apontando para a necessidade de abordagens complementares baseadas em fenótipos metabólicos intermediários.(ELAKKAD *et al.*, 2017; OLIVEIRA-PAULA *et al.*, 2016).

6.5 Assinaturas de Aminoácidos: Efeitos Amplos do VNTR e Pegada Restrita do T-786C

Em contraste com a ausência de estratificação clínica e de diferenças nos níveis circulantes de nitrito, o polimorfismo VNTR de 27 pares de bases do íntron 4 do NOS3 apresentou associações consistentes com o perfil plasmático de aminoácidos. Diferenças estatisticamente significativas foram observadas para citrulina ($p = 0,0007$), histidina ($p =$

0,0081), leucina ($p = 0,0441$), prolina ($p = 0,0149$) e glutamina ($p = 0,0482$), indicando uma modulação metabólica associada ao genótipo.

Embora o teste global de *Kruskal–Wallis* não tenha identificado separação metabólica completa entre os três genótipos, os contrastes pareados ajustados pelo método de Holm evidenciaram diferenças focais, particularmente quando comparados ao genótipo de referência I/D. Esse padrão sugere que o efeito do VNTR não se manifesta como uma alteração metabólica global, mas como deslocamentos específicos em vias metabólicas sensíveis à regulação do óxido nítrico.

A citrulina, metabólito central da via arginina–citrulina–NO, destacou-se como o aminoácido com maior evidência estatística, reforçando o vínculo funcional entre o VNTR do NOS3 e a regulação do metabolismo nitrogenado em pacientes submetidos à hemodiálise (RAI *et al.*, 2014; NATH *et al.*, 2009).

A modulação de aminoácidos como glutamina, histidina e prolina sugere que os efeitos do VNTR do NOS3 se estendem para além da síntese direta de NO, envolvendo processos relacionados ao transporte de nitrogênio, à resposta inflamatória e ao remodelamento tecidual. A glutamina desempenha papel central na imunometabolismo e na homeostase ácido-base, enquanto a histidina e seus derivados participam do tamponamento oxidativo. A prolina, por sua vez, está associada ao metabolismo do colágeno e à dinâmica da matriz extracelular, processos relevantes na rigidez vascular observada na DRC.

A alteração concomitante desses metabólitos sugere a existência de uma assinatura metabólica integrada, modulada pela variabilidade genética do NOS3, que não é capturada por marcadores clínicos convencionais, mas emerge claramente no domínio metabolômico.

A leucina (sinalização anabólica) e a prolina (turnover de colágeno) implicam remodelamento muscular e de matriz extracelular, processos sensíveis à perfusão endotelial e ao ambiente redox (Rai *et al.*, 2014; Shu *et al.*, 2015). A glutamina, central ao metabolismo imune e ao tamponamento ácido–base, converge com o sinal observado nos monócitos e com o estado inflamatório crônico típico da hemodiálise (IKIZLER *et al.*, 2020; DAIBER *et al.*, 2019).

Em contraste com o VNTR, as diferenças associadas ao T-786C restringiram-se à carnosina ($p = 0,0292$) e à hidroxilisina ($p = 0,0380$) (Tabela 10). As propriedades antioxidantes e antiglicantes da carnosina sugerem um mecanismo compensatório de tamponamento redox em genótipos com atividade promotora reduzida (COZMA *et al.*, 2019), enquanto a hidroxilisina — marcador de ligações cruzadas do colágeno — está alinhada a relatos que

associam o T-786C à rigidez arterial e ao remodelamento vascular (COZMA *et al.*, 2019). A ausência de alterações mais amplas no perfil de aminoácidos sugere que o impacto funcional dessa variante promotora pode ser mais sutil ou dependente de interações adicionais, como fatores epigenéticos ou ambientais.

Esse achado é coerente com a distribuição genotípica observada e com o desvio do equilíbrio de *Hardy–Weinberg* identificado para essa variante, indicando que sua interpretação deve considerar possíveis efeitos de estrutura populacional e tamanho amostral reduzido em alguns subgrupos genotípicos.

Em conjunto, o VNTR parece exercer uma pegada metabólica mais ampla do que o T-786C em pacientes em hemodiálise, possivelmente porque a variação intrônica interfere na regulação pós-transcricional e na expressão tecidual da eNOS de maneira mais difusa (OLIVEIRA-PAULA *et al.*, 2016; NATH *et al.*, 2009).

Embora os mapas de calor sintetizem visualmente essas tendências metabólicas, é fundamental esclarecer seu escopo inferencial para evitar interpretações equivocadas. Para ambos os polimorfismos, os testes globais de *Kruskal–Wallis* não alcançaram significância estatística para nenhum aminoácido, indicando que os dados não sustentam dispersão ampla entre todas as categorias genotípicas. Os “sinais” visíveis nos mapas de calor derivam exclusivamente das comparações pareadas ajustadas pelo método de Holm em relação ao genótipo de referência previamente definido. Esses contrastes permitem identificar separações metabólicas pontuais, mesmo na ausência de efeitos omnibus, ao revelar pares específicos de genótipos que diferem enquanto a variância global permanece não significativa.

Assim, os mapas de calor devem ser interpretados como ferramentas de mapeamento de padrões, e não como demonstrações de significância global. A intensidade das cores em cada linha reflete desvios relativos (escores z) das concentrações médias, e os valores de p sobrepostos referem-se apenas aos testes pareados ajustados. Esse enquadramento garante coerência com o desenho estatístico e previne superinterpretação dos gradientes de cor quando as comparações globais não sustentam diferenças multigrupos.

Nesse contexto, o mapa de calor do VNTR evidencia distinções metabólicas localizadas, enquanto o mapa de calor do T-786C revela uma pegada metabólica mais restrita e clinicamente coerente.

6.6 Plausibilidade Biológica e Síntese com Evidências Prévias

Meta-análises cardiovasculares implicam consistentemente polimorfismos do NOS3 (Glu298Asp, T-786C, VNTR de 27 pb) no risco aterotrombótico, com magnitudes de efeito variáveis conforme a ancestralidade populacional (RAI *et al.*, 2014). A literatura nefrológica também sustenta associações modestas entre o VNTR do íntron 4 e fenótipos renais, como a razão albumina–creatinina e o risco de doença renal terminal em DRC hereditária, embora com heterogeneidade entre estudos (NATH *et al.*, 2009; PADHI *et al.*, 2022).

Os dados do presente estudo ampliam essas evidências, ao demonstrar que, em pacientes em hemodiálise, a diferenciação associada aos genótipos do NOS3 manifesta-se predominantemente no domínio metabolômico, e não em divergências clínicas aparentes. Isso é coerente com o contexto da hemodiálise, no qual marcadores rotineiros (ureia, KT/V, hemoglobina) são fortemente padronizados por protocolos terapêuticos, reduzindo a variabilidade fenotípica observável (IKIZLER *et al.*, 2020).

Do ponto de vista metodológico, a neutralidade dos níveis de NOx apesar das diferenças genóticas era esperada, uma vez que o NOx integra múltiplas fontes de produção (incluindo iNOS), influência dietética e depuração dialítica, subestimando sinais específicos da produção endotelial de NO (TSIKAS, 2015).

Em conjunto, os resultados desta dissertação demonstram que, em pacientes submetidos à hemodiálise de manutenção, a variabilidade genética do NOS3 se expressa predominantemente por meio de assinaturas metabólicas plasmáticas, e não por marcadores clínicos ou laboratoriais tradicionais. O VNTR do íntron 4 apresenta um impacto metabólico mais amplo e consistente do que a variante promotora -786T>C, destacando o metabolismo de aminoácidos como um domínio particularmente sensível para a detecção de associações genótipo-fenótipo.

Esses achados reforçam o valor da metabolômica direcionada como ferramenta para revelar fenótipos intermediários em doenças complexas e multifatoriais, contribuindo para uma compreensão mais refinada da disfunção endotelial na (DRC).

7 REFERÊNCIAS

- BARBOSA, A. M. et al. Atherosclerosis: analysis of the eNOS (T-786C) gene polymorphism. **Genetic and Molecular Research**, v. 16, n. 3, p. 1-9, 2017.
- BARROS, E. et al. *Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.
- BAYLIS, C. Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 294, n. 1, p. F1-F9, 2008.
- BERGSTRÖM, J.; LINDHOLM, B. Nutrition and adequacy of dialysis. **Kidney International**, v. 43, p. S39-S50, 1993.
- BIKBOV, B. et al. Global burden of chronic kidney disease and its risk factors, 1990–2021. **The Lancet Global Health**, v. 11, n. 7, p. e1035-e1047, 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Diretrizes clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica no Sistema Único de Saúde (SUS)*. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil 2021–2030*. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
- CASAS, J. P. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v. 164, n. 10, p. 921-935, 2006.
- CHEN, J. et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 3, p. 167-174, 2004.
- COZMA, A. et al. Pharmacogenetic implications of eNOS polymorphisms (Glu298Asp, T-786C, 4b/4a) in cardiovascular drug therapy. **In Vivo**, v. 33, n. 4, p. 1051-1058, 2019.
- DAENEN, K. et al. Oxidative stress in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v. 34, n. 6, p. 975-991, 2019.
- DAIBER, A. et al. New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 1, p. 187, 2019.
- DEANFIELD, J. E.; HALCOX, J. P.; RABELINK, T. J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. **Circulation**, v. 115, n. 10, p. 1285-1295, 2007.
- EBERT, T. et al. Inflammation and oxidative stress in chronic kidney disease and dialysis patients. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 35, n. 17, p. 1426-1448, 2021.
- ELAKKAD, A. M. et al. T-786C variation in the promoter sequence of human eNOS gene markedly influences its expression level. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 11, n. 4, p. 193-197, 2017.

- FLETCHER, B. R. et al. Symptom burden and health-related quality of life in chronic kidney disease: a global systematic review and meta-analysis. **PLOS Medicine**, v. 19, n. 4, e1003957, 2022.
- FOREMAN, K. J. et al. Forecasting life expectancy and mortality for 250 causes of death: 2016–2040. **The Lancet**, v. 400, n. 10359, p. 2095-2128, 2022.
- FÖRSTERMANN, U.; XIA, N.; LI, H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 120, n. 4, p. 713-735, 2017.
- GBD CHRONIC KIDNEY DISEASE COLLABORATION. Global burden of chronic kidney disease, 1990–2017. **The Lancet**, v. 395, n. 10225, p. 709-733, 2020.
- GRUNDY, S. M. Metabolic syndrome update. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 26, n. 4, p. 364-373, 2016.
- HALL, J. E. et al. Obesity, kidney dysfunction, and hypertension: mechanistic links. **Nature Reviews Nephrology**, v. 10, n. 6, p. 337-347, 2014.
- HARLACHER, E. et al. Impact of uremic toxins on endothelial dysfunction in chronic kidney disease: a systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 531, 2022.
- IKIZLER, T. A. et al. KDOQI clinical practice guideline for nutrition in CKD: 2020 update. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 76, n. 3, p. S1-S107, 2020.
- JHA, V. et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. **The Lancet**, v. 382, n. 9888, p. 260-272, 2013.
- KOVESDY, C. P. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. **Kidney International**, v. 102, n. 1, p. 7-21, 2022.
- LEVEY, A. S.; CORESH, J. Chronic kidney disease. **The Lancet**, v. 379, n. 9811, p. 165-180, 2012.
- LONDON, G. M. et al. Arterial stiffness, endothelial dysfunction and cardiovascular disease in CKD. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 33, n. 2, p. ii17-ii23, 2018.
- MALTA, D. C. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: prioridades para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, supl. 1, 2017.
- MEDINA, A. M. et al. Polimorfismos NOS3 e insuficiência renal crônica. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 40, p. 273-277, 2018.
- NADAUD, S. et al. Gene structure, polymorphism and mapping of the human endothelial nitric oxide synthase gene. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 198, n. 3, p. 1027-1033, 1994.

- NATH, S. D. et al. The 27-bp repeat polymorphism in intron 4 of eNOS gene is associated with albumin to creatinine ratio. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 331, n. 1, p. 201-205, 2009.
- OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases. **Nitric Oxide**, v. 63, p. 39-51, 2017.
- RAI, H. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with coronary artery disease: meta-analysis. **PLOS One**, v. 9, n. 11, e113363, 2014.
- SANDRIM, V. C. et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and cardiovascular disease: a systematic review. **Nitric Oxide**, v. 76, p. 9-19, 2018.
- SARNAK, M. J. et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 108, n. 17, p. 2154-2169, 2003.
- SHU, X. et al. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, n. 23, p. 4561-4575, 2015.
- SONG, Y. et al. Amino acid metabolism modulates chronic kidney disease progression. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, 2023.
- STEVENS, P. E. et al. KDIGO 2024 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney International**, v. 105, n. 4, p. S117-S314, 2024.
- TSIKAS, D. Circulating and excretory nitrite and nitrate: limits of nitric oxide biomarkers. **Nitric Oxide**, v. 45, p. 1-3, 2015.
- VALLANCE, P.; CHAN, N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. **Heart**, v. 85, n. 3, p. 342-350, 2001.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global report on hypertension and kidney disease*. Geneva: WHO, 2023.
- YUN, Z. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with end-stage renal disease: systematic review. **Renal Failure**, v. 36, n. 6, p. 987-993, 2014.
- ZOCCALI, C. et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk in chronic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 6, p. 327-342, 2020.

8 APÊNDICES

8.1 APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
Programa de Pós Graduação em
Ciências e Tecnologias da Saúde**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

O (a) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar do projeto **POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL**, sob a responsabilidade da pesquisador Alexandre Pereira Batista.

O nosso objetivo é verificar o perfil genético na doença renal crônica, podendo essa descoberta ajudar no entendimento da doença e auxiliar outras pesquisas que procurem melhorar a qualidade de vida dos pacientes que possuem essa patologia. Sendo assim, pretendemos avaliar a influência de alterações genéticas, bioquímicas e imunológicas no sangue em pacientes diagnosticados com doença renal crônica, pois outros estudos têm demonstrado que fatores genéticos, contribuem para o desenvolvimento de doenças.

O (a) senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não será divulgado, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a), pois para nós o enfoque são somente os dados, e não a identificação do participante. Os dados genéticos resultantes serão somente acessíveis aos pesquisadores do presente estudo e não serão dissociados dos indivíduos. Além disso, os resultados da pesquisa serão compartilhados entre a comunidade através de publicação de artigos sobre o assunto. Caso o(a) senhor (a) queira saber o resultado individual da análise genética, poderá solicitar este ao pesquisador responsável.

Vale lembrar que o (a) senhor (a) pode se recusar a responder, ou participar de qualquer procedimento e de qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de

participar da pesquisa em qualquer momento, sem nenhum prejuízo para o (a) senhor (a). Se o (a) senhor (a) aceitar participar, estará contribuindo para o entendimento da doença, além de contribuir com outras pesquisas que procurem formas de melhorar o entendimento do paciente com doença renal crônica.

A sua participação se iniciará por meio da assinatura deste termo. Após a realização desta fase, o (a) senhor(a) será encaminhado para uma entrevista, composta por algumas perguntas, que serão feitas por um Enf^o(a). Nefrologista. Com essa fase concluída, será coletada do(a) senhor(a) 10mL de sangue venoso com um material de coleta adequado, novo e descartável. Essa coleta será feita por um profissional devidamente treinado. Este encontro durará um tempo estimado de 20 minutos e será realizado somente uma vez na Clínica Politécnica Saúde Ultramed em Santa maria - DF durante o seu tratamento de hemodiálise, a ser previamente agendado.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são formações de hematomas (manchas roxas) ou dor no local da coleta de sangue. Para evitar e minimizar estes riscos ou incômodo, medidas serão tomadas, como: utilização de materiais novos e descartáveis que sejam adequados ao procedimento; a sala de coleta será única e exclusiva para essa finalidade, além de estar totalmente higienizada, permanecendo no local somente o paciente e o profissional devidamente treinado que irá coletar, com exceções em situações em que participantes necessitam da presença de algum acompanhante. Caso ocorra alguma contaminação, o local será imediatamente desinfetado/limpo, comunicando ao superior imediato do acidente ocorrido. Um outro possível risco que pode acontecer é em relação ao constrangimento que as perguntas da entrevista podem gerar. Para essa situação, o(a) senhor (a) estará em um local que contará somente com a presença do Enfermeiro Nefrologista, profissional devidamente treinado, com exceção de casos no qual o participante necessita da presença de um acompanhante.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo a coleta da amostra do sangue venoso, a realização das técnicas genéticas e a realização dos exames bioquímicos, como hemograma. Para tanto, será oferecido, ao participante da pesquisa, os resultados do hemograma e de alguns exames bioquímicos. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação, que será voluntária.

Os resultados da pesquisa serão divulgados pela Universidade de Brasília (UnB)/Faculdade de Ceilândia (FCE) podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Se o(a) senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Alexandre Pereira Batista ((61)98303-6898 e Izabel Cristina Rodrigues da Silva ((61)98221-1974), Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ceilândia (CEP/FCE) no telefone (61) 3107-8434, disponível inclusive para ligação a cobrar, ou por e-mail cep.fce@gmail.com .

Caso concorde em participar, pedimos que o (a) senhor (a) assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o (a) senhor (a).

Nome do participante de pesquisa: --- _____

Assinatura do participante de pesquisa: _____

Alexandre Pereira Batista
Pesquisador Responsável

Brasília, _____ de _____ de _____.

8.2 APÊNDICE 2 - Termo de Guarda de Material Biológico



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
Programa de Pós Graduação em
Ciências e Tecnologias da Saúde

Termo de Guarda de Material Biológico

Eu Alexandre Pereira Batista e Prof^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, pesquisador(es), envolvidos no projeto intitulado **POLIMORFISMOS DO NOS3 E ASSINATURAS METABÓLICAS DE AMINOÁCIDOS NA HEMODIÁLISE CRÔNICA: IMPLICAÇÕES PARA A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL**, nos comprometemos a zelar pela guarda do material biológico coletado para este estudo, após obtenção do consentimento informado dos participantes da casuística da pesquisa, conforme o disposto na resolução do CNS N° 441, de 12 de maio de 2011.

Este termo é chamado de Termo de Guarda de Material Biológico. Ele contém explicações sobre a guarda do material biológico que foi coletado para a execução desta pesquisa. Você poderá ou não autorizar a guarda do seu material biológico.

Toda nova pesquisa a ser feita com material biológico guardado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Declaramos que, havendo necessidade de uso das amostras coletadas em um outro projeto, ele será submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa-CONEP. Uma vez aprovado o projeto, os participantes da casuística serão novamente contatados para assinar o novo TCLE, consentindo assim com o uso das amostras de sangue para a nova pesquisa. Para os dados associados, quando for o caso, será adotado o mesmo procedimento.

Os responsáveis pela guarda e autorização de uso do material biológico, devem estar comprometidos com a garantia do sigilo e respeito à confidencialidade dos dados obtidos, e também devem informar o local onde será armazenado o material biológico e por quanto tempo,

respeitando a Resolução CNS 441/2011. Aos participantes da casuísta da pesquisa, fica assegurado o fornecimento de informações de seu interesse, a respeito do material dele originado, como, por exemplo, resultados de exames bioquímicos e análise do perfil genético (polimorfismos).

A qualquer momento você terá acesso aos dados genéticos e os demais dados coletados durante a pesquisa. Sendo assim, você terá o direito de retirar o material biológico do banco, no qual se encontra armazenado. Todas as informações estarão sempre a sua disposição, bastando apenas entrar em contato com um dos pesquisadores.

Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca o nome do paciente ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade.

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com o nome do participante de pesquisa. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número. O sangue será utilizado somente em pesquisas que tenham como objetivo verificar se determinadas sequências de DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) e se as concentrações de algumas proteínas séricas podem estar relacionados com o prognóstico, tratamento, estadiamento e acompanhamento da doença, em um estudo descritivo e de caso controle.

O sangue coletado neste estudo será estocado no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Brasília/ Faculdade de Ceilândia (UnB/FCE), no banco de amostras “Doença Renal Crônica”, sob a responsabilidade e guarda dos pesquisadoras Alexandre Pereira Batista e Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

Eu, _____, RG _____, após ter recebido uma explicação completa sobre os procedimentos envolvidos na guarda de material biológico, venho através deste termo consentir a guarda do meu material biológico (sangue) ao pesquisador responsável, esse que guardará a minha amostra no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Brasília/Faculdade de Ceilândia (UnB/FCE).

Brasília, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante de pesquisa

8.3 APÊNDICE 3 - Ficha clínica do participante



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
Programa de Pós Graduação em
Ciências e Tecnologias da Saúde

FICHA CLÍNICA DO PARTICIPANTE

PERFIL SOCIAL

Local de encontro:

Data e horário do encontro: ___/___/___ :___

Há quanto tempo realiza hemodiálise? _____

Acesso vascular: () CDT () CDL () FAV

DADOS PESSOAIS

Nome do paciente:

Data de nascimento: ___/___/___

Idade: Sexo: () Masculino () Feminino () Outro: _____

Escolaridade: () Analfabeto () Ens. Fund. Completo () Ens. Fund. Incompleto

() Ens. Médio Completo

() Ens. Médio Incompleto () Ens. Superior Completo () Ens. Superior Incompleto ()

Pós-graduação

Telefone para contato:

E-mail:

Endereço:

() DF () GO

Estado civil: () Solteiro(a) () Casado(a) () Divorciado(a) () Viúvo(a) () Outro:

Religião: () Católico(a) () Evangélico(a) () Espírita () Sem religião (ateu/ateia)

() Outro(a): _____

Residência: () Própria () Alugada () Mora de favor

Trabalha? () Sim () Não () Aposentado(a) Se não, há quanto tempo?

Renda: () Formal () Informal () Benefício

HISTÓRICO SOCIAL

Bebidas alcoólicas: () Não () Sim () Bebia, mas parou há _____

Quantidade/dia: _____ Frequência do uso: _____

Tabaco (cigarro, charuto, narguilé): () Não () Sim () Fumava, mas parou há _____

Qual(is) usava? _____ Quantidade/dia: _____

Substâncias ilícitas: () Não () Sim () Usava, mas parou há _____

Qual(is) usava)? _____

Quantidade/dia: _____

Exercício Físico: () Não () Sim () Fazia, mas parou há _____

Tipo de atividade: _____ Frequência: _____

HISTÓRICO CLÍNICO

Peso seco (Kg): _____ Altura (cm): _____ IMC: _____

Histórico de Doenças Cardíacas: () Não () Sim Se sim, há quanto tempo?

Histórico de Diabetes: () Não () Sim. Tipo? _____ Se sim, há quanto tempo?

Histórico de Hipertensão Arterial Sistêmica: () Não () Sim Se sim, há quanto tempo?

HISTÓRICO FAMILIAR

Algum parente tem:

() Diabetes () Hipertensão Arterial () Doença Cardíaca () Doença Renal ()

Outro:

Outras anotações:

9 ANEXOS

9.1 ANEXO 1 - Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: POLIMORFISMO GENÉTICO ASSOCIADO A DOENÇA RENAL CRÔNICA DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE

Pesquisador: ALEXANDRE PEREIRA BATISTA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 4

CAAE: 82068124.9.0000.8093

Instituição Proponente: Universidade de Brasília Faculdade de Ceilândia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.205.672

Apresentação do Projeto:

Segundo a pesquisadora, "a doença renal crônica (DRC) é considerada um problema de saúde pública em todo o mundo. É caracterizada como um processo fisiopatológico multifatorial e irreversível, que frequentemente leva para um estado terminal da doença no qual o paciente tende a necessitar de tratamento contínuo. Muitos genes têm sido citados como candidatos participantes da doença renal crônica. Mas para que se comprove essa participação efetiva são necessários novos estudos em diferentes populações. Estes estudos contribuem para o melhor entendimento da doença, novas formas de diagnóstico precoce e tratamento antes mesmo do paciente entrar em terapia renal substitutiva, elevando assim a qualidade de vida do paciente. "

O presente projeto trata de um estudo transversal, descritivo e caso controle tem como objetivo analisar a influência genética dos polimorfismos dos seguintes Genes: NOS3, MMP9, SLC19A3, SP1, B2M, PKD1, KIM1, NLRP3, TXN, TNF, interleucinas, e apolipoproteínas, em pacientes portadores da DRC em tratamento dialítico por meio de um estudo de caso controle. Para isto, serão analisados 150 pacientes portadores de DRC, oriundos de uma clínica de hemodiálise privada localizada no Distrito Federal (Brasil), e 150 pacientes controles sem histórico de DRC preexistente. Amostras de sangue total serão coletadas para as análises

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/68
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

Continuação do Parecer: 7.205.672

genéticas; para a análise das características clínicas, serão registrados dados do prontuário dos participantes; e será aplicado também um instrumento WHOQOL-bref para avaliar a qualidade de vida dos pacientes em diálise. Com isso, espera-se estabelecer relações entre os polimorfismos estudados, as características avaliadas no instrumento utilizado e a patologia Doença Renal crônica, com uma análise estatística de associação, adotando-se o nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral é ζ Determinar a prevalência de polimorfismos genéticos, dosar a concentração sérica de proteínas de pacientes renais crônicos em tratamento de hemodiálise. Além disso, comparar esse grupo de participantes de pesquisa com um grupo sadio no diagnóstico e tratamento em um estudo transversal, descritivo e de caso-controle. ζ

Objetivos específicos: "Avaliar a influência entre o polimorfismo dos genes NOS3, MMP9, SLC19A3, SP1, B2M, PKD1, KIM1, NLRP3, TXN, TNF, interleucinas, apolipoproteínas na Doença Renal Crônica; Verificar a qualidade de vida e bem estar-social dos pacientes portadores da Doença Renal Crônica".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Durante a aplicação do instrumento de coleta de dados, o risco é entendido como a possibilidade de que o participante experimente sentimento de tristeza ou pesar, ou até mesmo sofra danos psicológicos, morais, espirituais e sociais, seja devido ao próprio questionário ou à possível detecção de uma doença ou reconhecimento de uma condição pessoal. É importante ressaltar, que devido à natureza da população estudada, as entrevistas e demais procedimentos serão realizados conforme o conforto do(a) participante e a privacidade será garantida, sendo todos os dados coletados ficando sob responsabilidade única do pesquisador responsável. Se surgirem quaisquer sinais de adversidade durante o processo de pesquisa, o pesquisador responsável e a equipe, estarão preparados para fornecer os recursos necessários para lidar com qualquer eventualidade que possa surgir durante as entrevistas. Durante a realização das entrevistas a equipe será composta por Enfermeiros especialista em Nefrologia e Psicólogos. Os participantes terão a opção de interromper imediatamente a resposta à entrevista semiestruturada, aos instrumentos de coleta de dados se desejarem, para garantir seu conforto e bem-estar emocional durante todo o procedimento. E, é claro, terão o direito de desistir da participação na pesquisa a qualquer momento. Para realização da coleta de sangue a recomendação da sequência dos tubos é baseada na (CLSI H3-A6, Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures; Approved

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

Continuação do Parecer: 7.205.672

Standart, 6th ed) e deve ser respeitada, para que não ocorra contaminação por aditivos nos tubos subsequentes. As medidas de segurança visam evitar injúrias tanto aos participantes como aos profissionais que farão o procedimento de coleta. Os critérios de avaliações de riscos e benefícios foram privados das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML - 2014): coleta e preparo da amostra biológica para Coleta de sangue venoso, descritos a seguir: ζ Formação de hematoma No momento da antes e após a coleta, existem alguns riscos e possíveis complicações, que poderão vir acontecer. ζ Punção acidental arterial A punção acidental de uma artéria é outro risco. Porém, é um fato considerado raro, sabendo que a escolha do local e habilidade do profissional é preponderante para que isso seja evitado. Infecção: Embora raro, existe a possibilidade da punção venosa de gerar alguma infecção no paciente, por isso, não deve ser desprezada. Por isso, é importante que antes da punção, haja a assepsia no ponto de aplicação. Lesão: nervosa Caso não ocorra sucesso na primeira tentativa de punção, a agulha deverá ser retirada, para que assim, uma segunda tentativa seja realizada. ζ Dor Geralmente, a dor gerada pela punção e retirada da agulha, é de fraca intensidade e suportável. Segurança do profissional de saúde: Os equipamentos de proteção individual (EPIs) devem estar de acordo visando a proteção do profissional e do paciente.

Cuidados na sala de coleta: A sala de coleta deverá ser único e exclusivamente para coleta, permanecendo no local somente o paciente e o flebotomista, com exceções para participantes que necessitam a presença de algum acompanhante, além da sala estar prontamente higienizada.

Descarte seguro de resíduos: De acordo com a RDC/Anvisa n. 306/2004, os resíduos gerados pelo procedimento, deverão ser descartados em local devido.

Benefícios:

A participação nesta pesquisa oferece benefícios significativos, incluindo a análise dos hábitos de vida dos participantes. Além de possibilitar a identificação de alterações genéticas de pacientes em hemodiálise. Os benefícios deste estudo são a obtenção de maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e tratamento da doença renal crônica. Será oferecida a possibilidade de retorno das informações obtidas, bem como a descrição dos achados referentes aos polimorfismos genéticos de cada indivíduo analisado. Os participantes de pesquisa ou representantes legais terão acesso aos resultados da pesquisa e dos exames laboratoriais mediante a sua solicitação ao pesquisador responsável, a qualquer momento, desde que as amostras já tenham sido processadas e analisadas. Esta solicitação poderá ser

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/68
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

Continuação do Parecer: 7.205.672

feita durante a assinatura do TCLE, por email ou telefone, presentes no TCLE, e a pesquisadora agendará uma reunião para a entrega do resultado. Os benefícios do uso de dados genéticos humanos coletados no âmbito da pesquisa serão compartilhados entre a comunidade envolvida sob forma de publicação de artigos científicos sobre o assunto. Será oferecida a possibilidade de contato eletrônico (e-mail) a todos os participantes que desejarem, para que as possíveis descobertas de informações sejam repassadas, em forma de artigos científicos (modo como serão divulgados os resultados da presente pesquisa). Os resultados do presente estudo ficarão disponíveis aos participantes de pesquisa e aos profissionais de saúde dos locais de estudo selecionado: Clínica Politécnica Saúde Ultramed CL 416 lote G, Santa Maria - DF. Apesar do estudo não gerar um benefício direto ao participante, esse poderá contribuir no entendimento de pesquisas publicadas que apresentaram como limitação a pouca representatividade da população. Além disso, pesquisas nessa temática proporcionam um melhor entendimento da Doença Renal Crônica, e a sua associação com variantes genéticas, além de contribuir no prognóstico, diagnóstico e tratamento da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está sendo desenvolvido por ALEXANDRE PEREIRA BATISTA, discente do curso de Mestrado Profissional do Programa de Ciências e Tecnologias em Saúde da Universidade de Brasília/ Faculdade de Ceilândia, na área de concentração: Mecanismos Básicos e Tecnologias em Saúde; sob a orientação da professora Dra. IZABEL CRISTINA RODRIGUES DA SILVA. A pesquisa contará com 300 participantes, sendo 150 do grupo caso e 150 do grupo controle.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pesquisador cumpriu as determinações das Res. 466/2012 e 510/2016.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As recomendações e pendências éticas foram atendidas. Portanto, consideramos parece APROVADO, tendo a/o pesquisadora/a cumprido as determinações das Res. 466/2012 e 510/2016.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS n.º 466, de 2012, e na Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa.

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/86
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

FACULDADE DE CEILÂNDIA
DA UNIVERSIDADE DE
BRASÍLIA - UNB



Continuação do Parecer: 7.205.672

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	carta_para_encaminhamento_de_pendencias2.pdf	01/11/2024 15:00:56	FLAVIA PEREIRA ROCHA	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2147200.pdf	29/10/2024 17:16:51		Aceito
Outros	carta_para_encaminhamento_de_pendencias3.docx	29/10/2024 17:16:25	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	UNB_DETALHADO1.docx	26/10/2024 14:32:36	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ATUALIZADO.docx	11/10/2024 17:18:42	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Guarda_de_Material_Biologico.docx	09/09/2024 18:44:16	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Cronograma	UNB_CRONOGRAMA_atualizado.docx	09/09/2024 18:39:38	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Orçamento	modelo_de_planiha_de_orcamento.doc	09/09/2024 18:38:47	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Declaração de concordância	Cooparticipante_LABORATORIO.pdf	09/09/2024 18:37:04	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	RESPONSABILIDADE_termo.pdf	23/07/2024 14:20:28	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	PROPONENTE.pdf	19/07/2024 09:44:26	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	COORDENACAO_CEP.pdf	19/07/2024 09:40:55	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	19/07/2024 09:33:32	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	12/07/2024 15:59:24	ALEXANDRE PEREIRA BATISTA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/68
 Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

FACULDADE DE CEILÂNDIA
DA UNIVERSIDADE DE
BRASÍLIA - UNB



Continuação do Parecer: 7.205.672

BRASÍLIA, 05 de Novembro de 2024

Assinado por:
Juliana Martins Pinto
(Coordenador(a))

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/68
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) CEP: 72.220-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 E-mail: cep.fce@gmail.com

9.2 ANEXO 2 - Submissão para publicação (artigo)

For consideration in Journal of Renal Care

Page 1 of 32

Journal of Renal Care

Original Research

Metabolic signatures of NOS3 genetic variation in patients receiving maintenance haemodialysis

Submission ID 73225530-86bd-476d-97d4-1ea13542b5df

Submission Version Initial Submission

PDF Generation 01 Jan 2026 20:49:28 EST by Atypon ReX

Files for peer review

All files submitted by the author for peer review are listed below. Files that could not be converted to PDF are indicated; reviewers are able to access them online.

Name	Type of File	Size	Page
artigo alexandre_final.docx	Anonymized Main Document - MS Word	1.2 MB	Page 3
Author Biodata_izabel.docx	Author Biodata	122.0 KB	Page 32