

Associação do polimorfismo 936C>T do gene do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) com a Doença Arterial Coronariana

Association between VEGF 936C>T Polymorphism and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) with Coronary Artery Disease

Patrícia M. Biselli¹; Alexandre R. Guerzoni²; Jaqueline A. Freitas³; Moacir F. Godoy⁴; Érika C. Pavarino-Bertelli⁵; Eny M. Goloni-Bertollo⁶*

¹Mestre em Ciências da Saúde*; ²Doutor em Ciências da Saúde; ³Acadêmica do Curso de Enfermagem**; ⁴Professor Livre Docente, Departamento de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular**; ⁵Professora Adjunta, Departamento de Biologia Molecular**; ⁶Professora Livre Docente, Departamento de Biologia Molecular**

*Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular – UPGEM**

**Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Resumo **Introdução:** O gene que codifica o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) tem sido investigado no desenvolvimento de doenças coronárias. Estudos apontam para um efeito protetor do VEGF no desenvolvimento da placa aterosclerótica, atuando como regulador da integridade endotelial vascular. O polimorfismo 936C>T do gene *VEGF* está associado com redução da síntese da proteína e parece desempenhar um importante papel no desenvolvimento da doença arterial coronariana (DAC). **Objetivo:** Investigar a relação entre o polimorfismo *VEGF* e presença, extensão e gravidade da DAC. **Casuística e Métodos:** Foram incluídos no estudo 50 pacientes com DAC confirmada por angiografia coronária e 50 indivíduos controles sem sinais angiográficos da doença. A genotipagem do polimorfismo *VEGF* 936C>T foi realizada por Reação em cadeia da polimerase, seguida de digestão enzimática. As análises estatísticas foram feitas por meio de teste Qui-quadrado, Teste exato de Fisher, Teste *t* e Regressão logística. **Resultados:** Tabagismo e *Diabetes Mellitus* (DM) foram mais frequentes nos pacientes em relação aos controles ($P = 0,015$ e $P = 0,013$, respectivamente). As frequências do alelo polimórfico foram 0,11 no grupo de pacientes e 0,17 no grupo controle ($P = 0,308$). A distribuição genotípica não diferiu significativamente entre os grupos ($P = 0,397$). Os genótipos *VEGF* 936C>T não foram associados ao número de vasos obstruídos ($P = 0,452$) ou grau de obstrução arterial ($P = 0,681$). **Conclusão:** O polimorfismo 936C>T do gene *VEGF* não apresentou associação com a DAC ou com a severidade da obstrução coronariana.

Palavras-chave Polimorfismo Genético; Fator A de Crescimento do Endotélio Vascular; Arteriosclerose Coronária; Fatores de Risco.

Abstract **Introduction:** The gene encoding vascular endothelial growth factor (VEGF) has been investigated in coronary artery disease progression. Studies point out protector effect of VEGF on atherosclerotic plaque development, playing regulating role of vascular endothelial integrity. The polymorphism *VEGF* 936C>T is associated with reduction of the protein synthesis, and could have an important role in coronary artery disease (CAD) development. **Objective:** To investigate the relationship between the *VEGF* 936C>T polymorphism and the presence, extension, and severity of CAD. **Casuistics and Methods:** Fifty patients with CAD confirmed angiographically, and 50 individuals without angiographic signs of the disease were included in the study. The genotyping of the *VEGF* 936C>T polymorphism was conducted by Polymerase chain reaction followed by enzyme digestion. Statistical analyses were performed by Chi-square, Exact Fisher test, Test *t* and Logistic regression. **Results:** Smoking and *Diabetes Mellitus* (DM) were frequent in patients compared to the controls ($P = 0.015$ and $P = 0.013$, respectively). The frequencies of the polymorphic allele were 0.11 in the CAD group and 0.17 in the control group ($P = 0.308$). Genotype distribution did not differ significantly between the groups ($P = 0.397$). The genotypes *VEGF* 936C>T were not associated to the number of blocked vessels ($P = 0.452$), or degree of arterial obstruction ($P = 0.681$). **Conclusion:** The polymorphism 936C>T of the *VEGF* gene did not present association with CAD or with severity of the coronary obstruction.

Keywords Genetic Polymorphism; Vascular Endothelial Growth Factor A; Coronary Arteriosclerosis; Risk Factors.

Introdução

A doença arterial coronária (DAC) caracteriza-se pela formação de placa aterosclerótica na parede dos vasos sanguíneos, na região próxima ao lúmen do vaso, denominada túnica interna ou íntima. A placa aterosclerótica apresenta um importante papel na captura e migração leucocitária para a parede do vaso¹. A base genética da aterosclerose não é totalmente conhecida; no entanto, genes envolvidos em processos inflamatórios, metabolismo de lipídios e coagulação já foram associados a várias características da doença².

O gene que codifica o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) tem sido investigado em estudos de doenças coronárias³⁻⁵. O VEGF é uma glicoproteína de 45kDa secretado na parede vascular por células endoteliais e células musculares lisas. É um importante mitógeno que promove a proliferação de células endoteliais e a angiogênese⁶⁻⁸. Alguns estudos apontam para um efeito protetor do VEGF no desenvolvimento da placa aterosclerótica, atuando como regulador da integridade endotelial vascular. Em resposta à administração de VEGF recombinante na artéria lesada, foi observada uma redução do espessamento da camada íntima da parede arterial e uma diminuição da formação de trombos^{9,10}.

Vários polimorfismos foram descritos no gene VEGF, alguns dos quais estão associados com expressão diferencial da proteína VEGF *in vitro*¹¹⁻¹⁴. Os polimorfismos 702C>T, 936C>T e 1612G>A do gene VEGF, apesar de não estarem localizados na região promotora, foram avaliados e concentrações plasmáticas significativamente mais baixas foram observadas em portadores do alelo 936T comparado à não portadores. As alterações 702C>T e 1612G>A não mostraram associação com os níveis de VEGF produzidos¹³. Outros dois polimorfismos localizados na região promotora do gene VEGF (-1154 e -2578) estão associados com altos níveis da proteína. Indivíduos portadores dos alelos polimórficos -1154G ou -2578C apresentam concentrações mais elevadas em relação aos não portadores¹⁴. O entendimento do papel do VEGF na aterosclerose, bem como dos fatores que podem regular a síntese dessa proteína é de grande importância no esclarecimento dos mecanismos que levam ao desenvolvimento da DAC. A investigação do polimorfismo VEGF 936C>T em DAC é fundamentada no fato deste estar relacionado com níveis reduzidos de VEGF. Uma vez que o VEGF pode exercer um efeito protetor na aterosclerose, portadores deste polimorfismo poderiam ter uma maior predisposição ao desenvolvimento da DAC, pois produziriam quantidades menores de VEGF.

Casuística e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e pelo Conselho de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP. O diagnóstico de DAC foi confirmado ou excluído por angiografia coronária, analisada por dois observadores em análise cega quantitativa. Os indivíduos que apresentaram lesão aterosclerótica no exame angiográfico foram incluídos no grupo DAC. Em caso de resultado angiográfico negativo, o indivíduo foi incluído no grupo controle. Foram avaliados 100 indivíduos caucasóides

(50 com DAC e 50 controles) procedentes do Serviço de Cardiologia e Cirurgia Vascular do Hospital de Base de São José do Rio Preto. A extensão da DAC foi determinada de acordo com o número de vasos coronários envolvidos (1 a 3), e a gravidade pelo grau de obstrução arterial (estenose <50%, 50-75%, >75-95% e >95%). Indivíduos submetidos à cirurgia de revascularização cardíaca, substituição de válvulas cardíacas ou colocação de prótese laminar coronariana foram excluídos do estudo. Foram considerados caucasóides os indivíduos que não apresentaram ascendência de outros grupos étnicos nas três gerações antecedentes¹⁵.

Fatores de risco clássicos para a DAC foram também investigados. Os critérios para definir diabetes foram o uso de agentes hipoglicêmicos orais ou insulina, ou níveis de glicemia acima de 126 mg/dL; para hipertensão, o uso de medicação anti-hipertensiva ou pressão sanguínea acima de 140/90 mmHg; para etilismo, a ingestão de álcool com frequência definida sem análise quantitativa; para tabagismo foram considerados indivíduos que fumaram >100 cigarros durante a vida e atualmente fumam regularmente.

Amostras de sangue periférico foram coletadas após consentimento livre e esclarecido. O DNA foi extraído de leucócitos¹⁶ e amplificado pela técnica de Reação em cadeia da polimerase (PCR), descrita anteriormente⁽¹⁷⁾. Trinta ciclos (95°C por 60s, 59°C por 60s e 72°C por 60s) foram realizados para amplificar um fragmento de 198 pb (pares de base). Um último ciclo de 10 minutos a 72°C foi realizado para extensão final das cadeias. O produto de da amplificação foi submetido à análise de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) com a utilização da enzima de restrição Nla III¹⁷. Os fragmentos resultantes da digestão foram analisados em gel de agarose 2,5%. Na presença do alelo selvagem C o fragmento de 198pb não foi cortado. Para o alelo T foram produzidos fragmentos de 114 pb e 84 pb. Indivíduos heterozigotos apresentaram os três padrões de banda. Diferenças entre os grupos para distribuições alélicas e genotípicas foram avaliadas por Teste Exato de Fisher. Teste Qui-quadrado foi utilizado para avaliar a associação entre genótipos e número de vasos obstruídos ou grau de obstrução arterial. Médias foram comparadas por Teste t. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi avaliado pelo Teste Qui-quadrado. A relação independente do polimorfismo VEGF C>T e de outros fatores de risco para a DAC foi analisada por Regressão logística múltipla. Valor de P < 0,05 foi considerado para estabelecer significância estatística. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Minitab for Windows e Bioestat 3.0.

Resultados

A caracterização dos pacientes em relação aos fatores de risco para a DAC está apresentada na Tabela 1. Tabagismo e Diabetes Mellitus foram mais frequentes nos pacientes em relação aos controles.

Não foram observadas diferenças nas frequências alélicas (P = 0,308) e genotípicas (P = 0,397) entre os grupos (Tabela 1). O alelo C foi mais prevalente no grupo com DAC (0,89) e controle (0,83), assim como o genótipo homozigoto selvagem VEGF

936CC no grupo DAC (80%), e heterozigoto VEGF 936CT no grupo controle (70%). O teste do HWE mostrou que a distribuição genotípica foi semelhante à esperada em ambos os grupos DAC e controle ($\chi^2_1=1,01$; $P=0,313$ e $\chi^2_1=2,19$; $P=0,138$, respectivamente).

Os genótipos do polimorfismo VEGF 936C>T não foram associados ao número de vasos obstruídos ($P=0,452$) (Tabela 2) ou grau de obstrução arterial ($P=0,681$) (Tabela 3).

Regressão logística múltipla foi realizada para avaliar fatores de risco independentes para a DAC. No modelo foram incluídos: sexo, idade, tabagismo, etilismo, hipertensão arterial, Diabetes Mellitus e o polimorfismo VEGF 936C>T. Tabagismo (OR 4,32 IC 1,4 – 13; $P=0,009$) e diabetes (OR 4,73 IC 1,4 – 16,5; $P=0,015$) foram significativamente associados à DAC. O polimorfismo VEGF 936C>T não se mostrou um fator de risco independente ($P=0,246$).

Discussão

A DAC caracteriza-se por uma doença multifatorial modulada por fatores de risco genéticos e ambientais. Sua incidência é relacionada a vários fatores de risco conhecidos como sedentarismo, alimentação, estresse, tabagismo e alterações em genes envolvidos nos mecanismos de desenvolvimento da aterosclerose^{1,5,17}.

O Diabetes Mellitus apresentou associação com a DAC, concordando com achados que mostram a influência da doença na gravidade da DAC¹⁸. Foi observado que o diabetes acelera o processo de aterogênese e aumenta a resposta inflamatória das lesões ateroscleróticas em modelos animais. Segundo esse estudo, um acelerado processo de aterogênese juntamente com aumento da quantidade de macrófagos nas lesões ateroscleróticas foi observado¹⁹.

Também foi encontrada uma associação entre tabagismo e a DAC no presente estudo. Outros trabalhos encontraram relação entre o hábito tabagista e o risco aumentado para doenças cardiovasculares^(18,20). O fumo é um dos principais fatores de risco estabelecidos para DAC e infarto do miocárdio^{18,19}. Disfunção vasomotora, inflamação e alteração lipídica são fatores importantes para o início e progressão da aterosclerose^{1,21}. Em humanos, o fumo promove disfunção da vasodilatação em artérias coronárias^{22,23} e estudos in vitro mostram que o cigarro está associado com diminuição da disponibilidade de óxido nítrico^{21,24}, um radical livre responsável pela vasodilatação do endotélio²⁵. In vivo, o fumo está associado com níveis elevados de marcadores inflamatórios, como proteína C-reativa, interleucina-6 e fator de necrose tumoral⁽²⁶⁻²⁸⁾. O fumo pode promover a aterosclerose, ainda, por sua influência no perfil lipídico. Fumantes apresentam níveis de colesterol sérico, triglicérides e LDL-C significativamente mais altos em relação à não fumantes, enquanto que os níveis de HDL-C são encontrados mais baixos nesses indivíduos²⁹.

O papel desempenhado pelo VEGF na aterosclerose permanece obscuro, uma vez que estudos observaram resultados contraditórios. Alguns trabalhos apontam o VEGF como fator anti-aterosclerótico capaz de promover a reendotelização e a redução do espessamento da camada arterial íntima e formação

de trombos¹⁰. Outros mostraram que a administração de VEGF humano recombinante acentua a progressão da placa aterosclerótica em modelos animais³⁰. A neovascularização da placa aterosclerótica, mediada pelo VEGF, disponibiliza nutrientes e componentes para a placa, aumentando seu volume. Em paredes de artérias com oclusão total, microvasos denominados vasa vasorum foram relacionados, em anatomia e quantidade, ao grau de inflamação da camada interna da placa³¹. Foi observada uma diminuição da progressão da aterosclerose secundária à inibição da neovascularização mediada pelo VEGF³². Dessa maneira, mais estudos são necessários para o esclarecimento do real papel do VEGF no desenvolvimento DAC. Polimorfismos do gene VEGF foram associados com variações na expressão da proteína em alguns estudos^{13,14}, podendo, assim, influenciar o processo de desenvolvimento da aterosclerose. Níveis plasmáticos de VEGF significativamente mais baixos foram encontrados em portadores do alelo alterado VEGF 936T em relação aos não portadores¹⁵. Por este motivo, a investigação deste polimorfismo em DAC é importante para o entendimento e esclarecimento dos fatores envolvidos no aumento do risco de desenvolvimento da aterosclerose coronária.

Neste estudo, frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo 936C>T do gene VEGF não diferiram entre pacientes com DAC e controles. Os genótipos do polimorfismo 936C>T também não foram associados em relação ao número de artérias obstruídas ou a severidade do comprometimento arterial. Outras alterações no gene VEGF têm sido investigadas em DAC⁵; no entanto, não existem dados a respeito da frequência do polimorfismo VEGF 936C>T em indivíduos com DAC. A frequência do alelo alterado em nosso estudo foi semelhante àquelas observadas por outros autores em estudos de outras afecções^{33,34}. Na população chinesa, o alelo polimórfico foi observado em 17,4% de pacientes com carcinoma espinocelular oral e em 14,9% de indivíduos controles³³. Estudo realizado com população da Turquia mostrou uma frequência de 0,21 em indivíduos com febre mediterrânea e de 0,19 em controles saudáveis³⁴. Em população canadense com artrite, o alelo alterado foi observado em 11,6% e em 16,8% dos indivíduos controles³⁵. Assim, mais estudos se mostram necessários para avaliação desta variabilidade genética, principalmente na população brasileira.

Tamanho amostral é um importante fator em estudos caso-controle, principalmente em investigações de polimorfismos com alta frequência na população. Estudos com número maior de indivíduos, além da investigação de outras alterações no gene VEGF, podem fornecer importantes dados para o esclarecimento da participação do VEGF na aterosclerose e dos fatores que contribuem para a etiologia da DAC.

Conclusão

Neste estudo não foi observada associação entre o polimorfismo 936C>T do gene que codifica VEGF e a DAC.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. José Antônio Cordeiro pela análise estatística, ao Celso Pereira Reis Filho pela elaboração do banco de dados, e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo

(FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Referências Bibliográficas

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
2. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407(6801):233-41.
3. Inoue M, Itoh H, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Komatsu R, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation* 1998;98(20):2108-16.
4. Fleisch M, Billinger M, Eberli FR, Garachemani AR, Meier B, Seiler C. Physiologically assessed coronary collateral flow and intracoronary growth factor concentrations in patients with 1- to 3-vessel coronary artery disease. *Circulation* 1999;100(19):1945-50.
5. Howell WM, Ali S, Rose-Zerilli MJ, Ye S. VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis. *J Med Genet* 2005;42(6):485-90.
6. Berse B, Brown LF, van de Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell* 1992;3(2):211-20.
7. Namiki A, Brogi E, Kearney M, Kim EA, Wu T, Couffignal T, et al. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem* 1995;270(52):31189-95.
8. Williams B, Baker AQ, Gallacher B, Lodwick D. Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995;25(5):913-7.
9. Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K, Chen D, Witzensichler B, Kearney M, et al. Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med* 1997;3(8):879-86.
10. Van Belle E, Tio FO, Chen D, Maillard L, Chen D, Kearney M, et al. Passivation of metallic stents after arterial gene transfer of phVEGF165 inhibits thrombus formation and intimal thickening. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(6):1371-9.
11. Brogan IJ, Khan N, Isaac K, Hutchinson JA, Pravica V, Hutchinson IV. Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Hum Immunol* 1999;60(12):1245-9.
12. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine* 2000;12(8):1232-5.
13. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res* 2000;37(6):443-8.
14. Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, Brogan IJ, Ramsay HM, Hutchinson IV, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms associated with increased risk of acute rejection in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(1):260-4.
15. Arruda VR, Siqueira LH, Gonçalves MS, von Zuben PM, Soares MC, Menezes R, et al. Prevalence of the mutation C677>T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Genet* 1998;78(4):332-5.
16. Abdel-Rahman SZ, Nouraldeen AM, Ahmed AE. Molecular interaction of [2,3-14C] acrylonitrile with DNA in gastric tissues of rat. *J Biochem Toxicol* 1994; 9(4):191-8.
17. Wolf G, Aigner RM, Schaffler G, Langsenlehner U, Renner W, Samonigg H, et al. The 936C>T polymorphism of the gene for vascular endothelial growth factor is associated with 18F-fluorodeoxyglucose uptake. *Breast Cancer Res Treat* 2004;88(3):205-8.
18. Norhammar A, Malmberg K, Diderholm E, Lagerqvist B, Lindahl B, Rydén L, et al. Diabetes mellitus: the major risk factor in unstable coronary artery disease even after consideration of the extent of coronary artery disease and benefits of revascularization. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(4):585-91.
19. Roy H, Bhardwaj S, Babu M, Kokina I, Uotila S, Ahtialansaari T, et al. VEGF-A, VEGF-D, VEGF receptor-1, VEGF receptor-2, NF-kappaB, and RAGE in atherosclerotic lesions of diabetic Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *FASEB J* 2006;20(12):2159-61.
20. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A, Katagiri T. Human urotensin II as a link between hypertension and coronary artery disease. *Hypertens Res* 2006;29(6):375-87.
21. Clarkson TB, Weingand KW, Kaplan JR, Adams MR. Mechanisms of atherogenesis. *Circulation* 1987;76(1 Pt 2):I20-8.
22. LaCroix AZ, Lang J, Scherr P, Wallace RB, Cornoni-Huntley J, Berkman L, et al. Smoking and mortality among older men and women in three communities. *N Engl J Méd* 1991;324(23):1619-25.
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Annual smoking-attributable mortality, years of potential life lost, and economic costs—United States, 1995–1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(14):300-3.
24. Miyake Y. Risk factors for non-fatal acute myocardial infarction in middle-aged and older Japanese. Fukuoka Heart Study Group. *Jpn Circ J* 2000;64(2):103-9.
25. Kugiyama K, Yasue H, Ohgushi M, Motoyama T, Kawano H, Inobe Y, et al. Deficiency in nitric oxide bioactivity in epicardial coronary arteries of cigarette smokers. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(5):1161-7.
26. Sumida H, Watanabe H, Kugiyama K, Ohgushi M, Matsumura T, Yasue H. Does passive smoking impair endothelium-dependent coronary artery dilation in women? *J Am Coll Cardiol* 1998;31(4):811-5.
27. Mayhan WG, Patel KP. Effect of nicotine on endothelium-dependent arteriolar dilatation in vivo. *Am J Physiol* 1997;272(5 Pt 2):H2337-42.
28. Ota Y, Kugiyama K, Sugiyama S, Ohgushi M, Matsumura T, Doi H, et al. Impairment of endothelium-dependent relaxation of rabbit aortas by cigarette smoke extract—role of free radicals

and attenuation by captopril. *Atherosclerosis* 1997;131(2):195–202.

29. Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide* 2001;5(2):88–97.

30. Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, Brendolan A, Hilfiker PR, Dake MD. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nat Med* 2001;7(4):425-9.

31. Srivatsa SS, Edwards WD, Boos CM, Grill DE, Sangiorgi GM, Garratt KN, et al. Histologic correlates of angiographic chronic total coronary artery occlusions: influence of occlusion duration on neovascular channel patterns and intimal plaque composition. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(5):955-63.

32. Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, Soliman M, Butterfield C, Sylvain E, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(8):4736-41.

33. Cheng CY, Chang CS, Liu CJ, Kao SY. Vascular endothelial growth factor 936 C/T polymorphism is associated with vascular invasion in oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod*. No prelo 2008.

34. Gunesacar R, Erken E, Ozer HT, Bozkurt B, Dinkci S, Deveci D. Analysis of vascular endothelial growth factor gene 936 C/T polymorphism in patients with familial Mediterranean fever. *Int J Immunogenet* 2008;35(1):33-6.

35. Butt C, Lim S, Greenwood C, Rahman P. VEGF, FGF1, FGF2 and EGF gene polymorphisms and psoriatic arthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2007;8:1-7.

Tabela 1. Características antropométricas e clínicas da amostra.

Características	Pacientes		Controles		Valor de P*	
	(n=50)		(n=50)			
	N	%	N	%		
Avaliadas						
Sexo						
	F	18	36	19	38	0,836
	M	32	64	31	62	
Idade (média±DP)	61,38±14	-	55,94±13	-	0,045	
Tabagismo	35	70	22	44	0,015	
Etilismo	15	30	17	34	0,830	
HAS	41	82	32	64	0,072	
DM	16	32	05	10	0,013	
<i>VEGF 677C>T</i>						
	CC	40	80	35	70	0,847
	CT	9	18	13	26	
	TT	1	2	2	4	
Frequência do alelo T	0,11		0,17		0,789	

DP – desvio padrão; HAS – hipertensão arterial sistêmica; DM – diabetes *mellitus*. *As frequências foram comparadas por Teste Exato de Fisher; a média de idade foi analisada por Teste *t*.

Tabela 2. Distribuição das frequências genótípicas do polimorfismo *VEGF 936C>T* com o número de vasos lesados.

Genótipo	Número de artérias obstruídas			Valor de P
	Uma artéria	Duas artérias	Três artérias	
	n(%)	n(%)	n(%)	
CC	09 (69)	16 (84,2)	15 (83,3)	0,452
CT	04 (31)	02 (10,5)	03 (16,7)	
TT	0 (0)	01 (5,3)	0 (0)	

n – número de indivíduos

Tabela 3. Distribuição genotípica e severidade da lesão coronariana.

Genótipo	Grau de obstrução arterial				Valor de P
	<50%	50-75%	>75-95%	>95%	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
CC	4 (100)	09 (69,2)	16 (53,3)	11 (84,6)	0,681
CT	0 (0)	04 (30,8)	03 (10)	02 (15,4)	
TT	0 (0)	0 (0)	01 (36,7)	0 (0)	

n – número de indivíduos

Correspondência:

Eny Maria Goloni-Bertollo
 Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416 – Bloco U-6
 15090-000 – São José do Rio Preto-SP
 Tel. (17)3201-5720 / Fax. (17)3201-5841
 e-mail: eny.goloni@famerp.br