



## Wybrane polimorfizmy genu VEGF w przewlekłej chorobie nerek

### Selected polymorphisms of VEGF gene in chronic renal failure

Joanna Żywiec<sup>1</sup>, Katarzyna Kiliś-Pstrusińska<sup>2</sup>, Władysław Grzeszczak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Nefrologii Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Poznanie złożonej etiopatogenezy przewlekłej choroby nerek (PChN) budzi nadzieje na rozwój skutecznych metod jej wczesnej diagnostyki oraz skutecznej profilaktyki i leczenia. Liczne badania dowodzą znaczenia predyspozycji genetycznej w rozwoju przewlekłego uszkodzenia nerek w przebiegu różnych chorób.

Celem pracy była ocena związku wybranych polimorfizmów genu VEGF (*vascular endothelial growth factor*) z występowaniem przewlekłej choroby nerek.

**MATERIAŁ I METODY:** Grupę badaną stanowiły 103 rodziny (*trios*): dwoje biologicznych rodziców i dziecko z PChN w stadium co najmniej trzecim, tj. z  $eGFR \leq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, na tle przewlekłego kłębuszkowego zapalenia nerek (29%) lub nefropatii śródmiąższowej (71%). W chwili badania średni wiek dzieci z PChN wynosił 15,2 roku, a średnia filtracja kłębuszkowa 28,9 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. U 45% chorych zastosowano leczenie zachowawcze, u pozostałych nerkozastępcze. U wszystkich badanych pobrano jednorazowo próbki krwi żyłnej w celu wyizolowania materiału genetycznego i przeprowadzono genotypowanie wybranych polimorfizmów genu VEGF metodą TaqMan. Do opracowania statystycznego wyników posłużyły programy Statistica 10 i Microsoft Office Excel 2003 z wykorzystaniem testu nierównowagi sprzężeń (*transmission disequilibrium test* – TDT), testu  $\chi^2$  oraz estymatora Kaplana-Meiera. Za granicę istotności statystycznej przyjęto wartości  $p < 0,05$ .

**WYNIKI:** Nie wykazano różnic w przekazywaniu alleli badanych polimorfizmów rs699947 i rs1570360 genu VEGF od rodziców do potomka z PChN.

**WNIOSKI:** Nie stwierdzono związku polimorfizmów rs699947 i rs1570360 genu VEGF z występowaniem przewlekłej choroby nerek w stadium  $\geq 3$ .

#### SŁOWA KLUCZOWE

VEGF-A, przewlekła choroba nerek, rs699947, rs1570360

Received: 31.10.2016

Revised: 01.12.2016

Accepted: 25.11.2017

Published online: 10.12.2018

Adres do korespondencji: Dr hab. n. med. Joanna Żywiec, Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3-Maja 13/15, 41-800 Zabrze, tel. + 48 32 370 44 88, e-mail: jzywiec@sum.edu.pl

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
www.annales.sum.edu.pl



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Understanding the complex etiopathogenesis of chronic kidney disease (CKD) raises hopes for the development of effective methods for its early diagnosis and effective prevention and treatment. The significance of genetic predisposition in renal damage development has been proven in many studies.

The objective of our study was to estimate the connections between selected VEGF polymorphisms and the incidence of chronic renal failure.

**MATERIALS AND METHODS:** 103 families, consisting of both parents and affected offspring with CKD stage below 3, i.e. eGFR below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, participated our study. The mean age of the children was 15.2 years and mean eGFR 28.9 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. The main reason for renal damage was interstitial nephropathy (71%) and the second (29%) – chronic glomerulonephritis. 45% of patients were conservatively treated, while others remained on chronic renal replacement therapy. Venous blood samples were collected for DNA isolation. Selected VEGF polymorphisms were genotyped by the TaqMan method. The obtained results were analyzed on the basis of Statistica 10 and Microsoft Office Excel 2003 software using the transmission disequilibrium test (TDT),  $\chi^2$  test and the Kaplan-Meier estimator. For all the calculations, a *p* value below 0.05 was adopted as the limit of statistical significance.

**RESULTS:** No differences in the estimated and observed rs699947 or rs1570360 allele transmission between the parents and their affected offspring were found.

**CONCLUSIONS:** No relations between rs699947 and rs1570360 VEGF polymorphisms and the incidence of chronic kidney disease of at least stage 3 were established.

## KEY WORDS

VEGF-A, chronic kidney disease, rs699947, rs1570360

## WSTĘP

Szacuje się, że przewlekła choroba nerek (PChN) dotyczy około 10% populacji krajów rozwiniętych. Według prognoz epidemiologicznych odsetek ten może w przyszłości wzrastać m.in. z uwagi na starzenie populacji oraz zwiększającą się częstość występowania chorób metabolicznych i sercowo-naczyniowych [1]. Choroby nerek w początkowych etapach przebiegają skąpoobjawowo, co wielokrotnie powoduje późne rozpoznanie i nieefektywność leczenia. Skutkiem tego jest nieodwracalne uszkodzenie nerek i konieczność wdrożenia leczenia nerkozastępczego. Na tym etapie zaawansowania choroby obserwuje się niesatysfakcjonującą jakość życia, wysoką współchorobowość, przedwczesną inwalidyzację oraz zwiększoną śmiertelność pacjentów. Poznanie czynników biorących udział w złożonej etiopatogenezie uszkodzenia nerek jest kluczem do ustalenia skutecznych metod diagnostyki i zwalniania progresji PChN. Prowadzone w ostatnich dekadach badania jednoznacznie dowodzą znaczenia predyspozycji genetycznej w rozwoju przewlekłego uszkodzenia nerek. Jednym z biologicznie aktywnych białek włączonych w homeostazę układu moczowego jest czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) [4]. Liczne obserwacje kliniczne wskazują na związek jego zmienności polimorficznej m.in. z rozwojem powikłań sercowo-naczyniowych, retinopatii cukrzycowej, chorób układowych i nowotworowych oraz przewlekłym uszkodzeniem nerek [5,6,7,8,9,10,11,12,13,14].

Celem pracy była ocena związku wybranych polimorfizmów genu VEGF z występowaniem przewlekłej choroby nerek w stadium co najmniej trzecim.

Praca stanowi kontynuację wcześniejszych badań prowadzonych w Katedrze Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrze, mających na celu ustalenie genetycznego podłoża rozwoju przewlekłej dysfunkcji nerek. W tym celu zaplanowano i przeprowadzono badanie rodzin, w których potomek choruje na PChN. Badanie uzyskało akceptację Komisji Biologicznej SUM.

## MATERIAŁ I METODY

Grupę badaną stanowiły 103 rodziny (*trios*): dwoje biologicznych rodziców i dziecko z PChN w stadium co najmniej trzecim (tj. z eGFR  $\leq$  60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). W chwili badania średni wiek osób z PChN wynosił  $15,2 \pm 27,2$  roku, a średnia szacowana filtracja kłębuszkowa eGFR obliczana – odpowiednio dla chorych w wieku poniżej i powyżej 18 lat – na podstawie wzorów Schwartz’a lub MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)  $28,9 \pm 22,2$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Przyczyna PChN została ustalona na podstawie wyniku badania histopatologicznego bioptatu nerki (24%) lub typowych objawów klinicznych i wyników badań dodatkowych, przy wykluczeniu innych schorzeń. U 29% badanych rozpoznano przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek (PKZN), a u 71% przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek (PŚZN), w 78% współistniejące z wadą układu moczowego. U 38% chorych współ-



występowało nadciśnienie tętnicze. U 45% chorych zastosowano leczenie zachowawcze, a u pozostałych nerkozastępcze (17 osób leczono metodą powtarzanych hemodializ, 32 osoby metodą dializy otrzewnowej, 8 chorych przebyło udany zabieg przeszczepienia nerki). Średni czas obserwacji chorych wynosił  $7,1 \pm 5,7$  roku, a pierwsze dostępne z dokumentacji medycznej stężenie kreatyniny w surowicy krwi  $0,7 \pm 0,2$  mg/dl. Protokół badania przewidywał jednorazową wizytę, podczas której po wyrażeniu przez uczestników pisemnej zgody na udział w badaniu (lub/i zgody prawnych opiekunów w przypadku osób w wieku poniżej 18 lat) przeprowadzano wywiad lekarski, dokonywano pomiarów antropometrycznych (masa ciała, wzrost) i pomiaru ciśnienia tętniczego oraz pobierano próbkę krwi żyłnej (10 ml) do badań genetycznych. Dane dotyczące rozpoznania choroby nerek, jej przebiegu oraz leczenia uzyskano przez analizę dostępnej dokumentacji medycznej.

Wszystkie badania genetyczne zostały wykonane w Laboratorium Katedry Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrze. Materiał genetyczny wyizolowano z leukocytów krwi obwodowej według protokołu Epicentre Technologies w modyfikacji własnej. Genotypowanie wybranych polimorfizmów genu VEGF wykonano metodą TaqMan (Applied Biosystems Company).

Do analizy statystycznej wykorzystano programy Microsoft Office Excel 2003 oraz Statistica 10. Podstawę analizy statystycznej wyników badań genetycznych stanowił test nierównowagi sprzężeń (*transmission disequilibrium test* – TDT), który ocenia przekazywanie alleli od rodziców do chorego potomka. Z analizy statystycznej jako nieinformatywne zostały wykluczone rodziny, w których obydwój rodzice byli homozygotami w zakresie badanych polimorfizmów.

Po sprawdzeniu rozkładu zmiennych ilościowych przedstawiono je jako wartości średnie  $\pm$  odchylenie standardowe. Dane jakościowe przedstawiono jako wartość względną (procent całości). Wykorzystując test  $\chi^2$ , dokonano analizy rozkładu genotypów poszczególnych polimorfizmów w badanych podgrupach chorych. Ponadto, korzystając z estymatora Kaplana-Meiera, oceniono, czy genotyp badanych polimorfizmów miał wpływ na czas rozpoczęcia przez chorych leczenia nerkozastępczego.

We wszystkich analizach statystycznych jako znamienne przyjęto wartości  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

### Polimorfizm rs699947 genu VEGF

Rozkład genotypów badanego polimorfizmu przedstawiono w tabeli I. Stwierdzono, że genotyp AA występuje u 29% chorych z PChN, CC u 19,5% oraz AC u 51,5%.

W zakresie badanego polimorfizmu informatywne dla testu TDT było 88 rodzin. Nie stwierdzono różnic w przekazywaniu alleli badanego polimorfizmu od rodziców do potomka z PChN (tab. II).

**Tabela I.** Rozkład alleli i genotypów polimorfizmu rs699947 genu VEGF w badanej grupie (%)

**Table I.** Distribution of allele and genotypes of VEGF polymorphism rs699947 in study group (%)

	Wszyscy chorzy	Chorzy z PKZN	Chorzy z PŚZN
AA	29,0	20	28,8
CC	19,5	20	19,2
AC	51,5	50	52
allel A	54,9	55	54,8
allel C	45,1	45	45,2

PKZN – przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek

PŚZN – przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek

**Tabela II.** Częstość przekazywania alleli polimorfizmu rs699947 genu VEGF od rodziców do potomków z PChN w stadium  $\geq 3$ ; test TDT

**Table II.** Frequency of VEGF gene polymorphism rs699947 allele transmission from parents to their offspring with CKD stage  $\geq 3$ ; TDT test

Grupy ↓	Przekazany allel A obserwowane/oczekiwane		Przekazany allel C obserwowane/oczekiwane		$\chi^2$	p
	tak	nie	tak	nie		
Wszyscy chorzy	50/47,5	45/47,5	45/47,5	50/47,5	0,2631	0,6079
Chorzy z PKZN	14/13,5	13/13,5	13/13,5	14/13,5	0,0370	0,8474
Chorzy z PŚZN	36/34	32/34	32/34	36/34	0,2353	0,6276

PKZN – przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek

PŚZN – przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek

TDT – *transmission disequilibrium test*

**Polimorfizm rs1570360 genu VEGF**

Wykazano, że 10,1% chorych z PChN prezentowało genotyp AA, 44,4% GG, a 45,5% genotyp AG. Rozkład alleli i genotypów polimorfizmu rs1570360 w badanej grupie przedstawiono w tabeli III.

**Tabela III.** Rozkład alleli i genotypów polimorfizmu rs1570360 genu VEGF w badanej grupie (%)  
**Table III.** Distribution of allele and genotypes of VEGF polymorphism rs1570360 in study group (%)

	Wszyscy chorzy	Chorzy z PKZN	Chorzy z PŚZN
AA	10,1	13,8	8,6
GG	44,4	48,3	42,8
AG	45,5	37,9	48,6
allel A	32,8	32,8	32,8
allel G	67,2	67,2	67,1

PKZN – przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek

PŚZN – przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek

W zakresie badanego polimorfizmu informatywne dla testu TDT były 73 rodziny. Wyniki testu TDT nie wykazały różnic w przekazywaniu alleli badanego polimorfizmu od rodziców do potomka z PChN (tab. IV).

**Tabela IV.** Częstość przekazywania alleli polimorfizmu rs1570360 genu VEGF od rodziców do potomków z PChN w stadium  $\geq 3$ ; test TDT  
**Table IV.** Frequency of VEGF gene polymorphism rs1570360 allele transmission from parents to their offspring with CKD stage  $\geq 3$ ; TDT test

Grupy ↓	Przekazany allel G obserwowane/oczekiwane		Przekazany allel A obserwowane/oczekiwane		$\chi^2$	p
	tak	nie	tak	nie		
Wszyscy chorzy	38/40,5	43/40,5	43/40,5	38/40,5	0,3086	0,5785
Chorzy z PKZN	13/12,5	12/12,5	12,5	13/12,5	0,0400	0,8415
Chorzy z PŚZN	25/28	31/28	31/28	25/28	0,6428	0,4227

PKZN – przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek

PŚZN – przewlekłe śródmiąższowe zapalenie nerek

TDT – transmission disequilibrium test

Przeprowadzona z wykorzystaniem estymatora Kaplana-Meiera analiza wpływu genotypów badanych polimorfizmów na czas rozpoczęcia leczenia nerkozaściępczego nie wykazała znamienności statystycznej.

**DYSKUSJA**

Prowadzone od lat badania dowodzą, że VEGF to multipotencjalna cytokina o szerokim, aczkolwiek nie do końca poznany spektrum działania zarówno w fi-

zjologii, jak i w patologii [4]. Włączona jest nie tylko w nowotworzenie naczyń, ale wpływa też na proliferację, różnicowanie i przeżycie komórek śródbłonka [3]. Pośredniczy w procesach wazodylatacji i przepuszczalności naczyń oraz – poprzez wpływ na aktywator plazminogenu i kolagenazy – w przebudowie macierzy. Głównym stymulatorem ekspresji i produkcji VEGF jest hipoksja [15]. Czynnikiem wzrostu śródbłonka naczyniowego włączony jest również w sieć wzajemnych zależności z licznymi czynnikami aktywnymi biologicznie, tj. TGF-beta, PDGF, IGF-1, angiotensyną II, IL-1 i IL-6. Na jego produkcję wpływa m.in. stres mechaniczny i oksydacyjny oraz zaawansowane produkty glikacji. Działanie VEGF jest połączone ujemną pętlą sprzężenia zwrotnego z produkcją tlenu azotu [6]. W nerkach największa ekspresja VEGF lokalizuje się w podocytach i komórkach cewek nerkowych (głównie cewek dystalnych i zbiorczych), a receptory dla VEGF znajdują się głównie na komórkach śródbłonka w regionie przedkłębuszkowym, w obszarze kłębuszka oraz w topografii cewek nerkowych [2]. Działanie VEGF jest niezbędne do prawidłowego rozwoju nefronów [5,16]. Badania na zwierzętach wskazują, że homozygoty pozbawione VEGF giną w życiu płodowym lub zaraz po urodzeniu [17]. Wydaje się, że działanie VEGF może się rozwijać w dwóch przeciwnych kierunkach: zarówno niekorzystnym, jak i korzystnym [6,18]. Stymulując neoangiogenezę, VEGF promuje wzrost nowotworów [7,19]. Poprzez wpływ na rozwój unaczynienia w torbielach nerek może być odpowiedzialny za progresję choroby [20]. Indukcja hipertrofii kłębuszków nerkowych i hiperfiltracji może być niekorzystna we wczesnych stadiach nefropatii cukrzycowej [14]. Z drugiej jednak strony VEGF, jako stymulator proliferacji i wzrostu komórek śródbłonka, jest mediatorem prze-rostu kłębuszków i cewek w odpowiedzi na redukcję liczby czynnych nefronów. Obserwuje się jego pozytywne działanie stymulujące regenerację kłębuszków i śródmiąższu w przypadku mikroangiopatii zakrzepowej oraz w nefrotoksycznym działaniu cyklosporyny [4,5,6]. Sugeruje się, że działanie VEGF może być głównym mechanizmem naprawy kłębuszków nerkowych niszczone w przebiegu ich przewlekłego procesu zapalnego na tle immunologicznym [6,8,9,21,22,23]. Korzystne działanie VEGF potwierdzają objawy uboczne ze strony nerek podczas stosowania antagonistów VEGF, tj. białkomocz czy nadciśnienie tętnicze. Przewlekła hipoksja to czynnik silnie stymulujący włóknienie miąższu nerki – proces nieodwracalnie niszczący jej struktury i pogarszający funkcję [24,25,26]. U chorych z mocznicą stwierdza się wysoką ekspresję VEGF, co może wynikać z hipoksji tkankowej, większej produkcji VEGF lub mniejszego klirensu nerkowego tej cytokiny [6,27].

Gen VEGF jest wysoce zmienny polimorficznie. Poszczególne polimorfizmy mogą wpływać na zmiany



ekspresji VEGF. Budzi to nadzieje na wykorzystanie ich jako markerów podatności na rozwój choroby nerek, jej powikłania lub progresję [10,11,12]. Celem naszych badań było ustalenie związku wybranych polimorfizmów genu VEGF z występowaniem przewlekłej choroby nerek. Do analizy wytypowaliśmy m.in. polimorfizmy rs699947 i rs1570360. Rothuizen i wsp. [10], badając populację 1330 chorych leczonych w programie potwarzanych hemodializ, wykazali, że polimorfizm rs699947 stanowi czynnik zwiększonego ryzyka śmiertelności niezależnie od jej przyczyny. Lacchini i wsp. [11] sugerują, że może to wynikać z wpływu na remodeling mięśnia sercowego. Potwierdza to obserwacja różnic w rozkładzie genotypów badanego polimorfizmu w grupie osób z chorobą wieńcową [12,13]. Jest to temat bardzo ważny w praktyce klinicznej, bowiem populację chorych w zaawansowanych stadiach PChN charakteryzuje zwiększona śmiertelność [10]. Przeprowadzona przez Jimenez-Sousę i wsp. [23] analiza wyników 276 chorych po przeszczepie nerki wykazała, że badany polimorfizm stanowi czynnik ryzyka rozwoju przewlekłej nefropatii graftu. W grupie osób pochodzenia hiszpańskiego wykazano, że polimorfizm rs699947 może być czynnikiem ryzyka rozwoju nefropatii nadciśnieniowej [28]. Według danych literaturowych genotyp GA polimorfizmu rs1570360 jest czynnikiem zmniejszającym ryzyko rozwoju przewlekłej niewydolności nerek na tle nefropatii nadciśnieniowej [29]. Co więcej, sugeruje się jego działanie protekcyjne w rozwoju przewlekłej choroby wieńcowej [12]. Badanie grupy osób z zapaleniem naczyń z zajęciem nerek (choroba Schönleina-Henocha) sugeruje związek progresji cho-

roby z badanym polimorfizmem. Osoby chore były częściej nosicielami allelu G i charakteryzowały się większą produkcją białka VEGF niż osoby z grupy kontrolnej [8].

W tle cytowanych danych literaturowych oczekiwaliśmy, że przeprowadzone przez nas badanie wykaże związek wybranych polimorfizmów z występowaniem przewlekłej choroby nerek w przebiegu ich przewlekłego kłębuszkowego lub śródmiąższowego zapalenia. Uzyskane wyniki nie potwierdziły jednak naszych założeń. Być może wynika to z małej liczebności grupy badanej, choć wybrany przez nas model badań – badanie rodzin – jest opisywany w literaturze jako model o dużej czułości, bowiem wyklucza niejednorodność fenotypową badanych. Mając na uwadze szerokie spektrum działania fizjologicznego i patofizjologicznego VEGF, budzące nadzieje rozwoju nowych kierunków terapii przewlekłego uszkodzenia nerek, celowe wydaje się kontynuowanie badań w tym temacie [30].

## WNIOSKI

Nie stwierdzono związku polimorfizmów rs699947 i rs1570360 genu VEGF z występowaniem przewlekłej choroby nerek w stadium  $\geq 3$ .

Praca zrealizowana w ramach umowy KNW-1-153/N/4/0.

### Author's contribution

Study design – W. Grzeszczak  
Data collection – W. Grzeszczak, J. Żywiec, K. Kiliś-Pstrusińska  
Data interpretation – J. Żywiec, W. Grzeszczak, K. Kiliś-Pstrusińska  
Statistical analysis – J. Żywiec  
Manuscript preparation – J. Żywiec  
Literature research – J. Żywiec, K. Kiliś-Pstrusińska

### PIŚMIENNICTWO:

1. Jha V., Wang A.Y., Wang H. The impact of CKD identification in large countries: the burden of illness. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012; 27(Suppl. 3): iii32–iii38, doi: 10.1093/ndt/gfs113.
2. Muhl L., Moessinger C., Adzemovic M.Z., Dijkstra M.H., Nilsson J., Zeitelhofer M., Hagberg C.E., Huusko J., Falkevall A., Ylä-Herttuala S., Eriksson U. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney. *Cell Tissue Res.* 2016; 365(1): 51–63, doi: 10.1007/s00441-016-2377-y.
3. Kim B.S., Goligorsky M.S. Role of VEGF in kidney development, microvascular maintenance and pathophysiology of renal disease. *Korean J. Intern. Med.* 2003; 18(2): 65–75.
4. Marti H.H. Vascular endothelial growth factor. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2002; 513: 375–394.
5. Advani A. Vascular endothelial growth factor and the kidney: something of the marvellous. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2014; 23(1): 87–92, doi: 10.1097/01.mnh.0000437329.41546.a9.
6. Schrijvers B.F., Flyvbjerg A., De Zeeuw D.L. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int.* 2004; 65(6): 2003–2017.
7. Zhang Y., Li S., Xiao H.Q., Hu Z.X., Xu Y.C., Huang Q. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and renal cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oncol. Lett.* 2013; 6(4): 1068–1078.
8. Rueda B., Perez-Armengol C., Lopez-Lopez S., Garcia-Porrúa C., Martín J., Gonzalez-Gay M.A. Association between functional haplotypes of vascular endothelial growth factor and renal complications in Henoch-Schönlein purpura. *J. Rheumatol.* 2006; 33(1): 69–73.
9. Wongpiyabovorn J., Hirankarn N., Ruchusatsawat K., Yooyongsatit S., Benjachat T., Avihingsanon Y. The association of single nucleotide polymorphism within vascular endothelial growth factor gene with systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Int. J. Immunogenet.* 2011; 38(1): 63–67, doi: 10.1111/j.1744-313X.2010.00960.x.



10. Rothuizen T.C., Ocak G., Verschuren J.J., Dekker F.W., Rabelink T.J., Jukema J.W., Rotmans J.I. Candidate Gene Analysis of Mortality in Dialysis Patients. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143079, doi: 10.1371/journal.pone.0143079.
11. Lacchini R., Luizon M.R., Gasparini S., Ferreira-Sae M.C., Schreiber R., Nadruz W. Jr, Tanus-Santos J.E. Effect of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor on left ventricular hypertrophy in patients with systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 2014; 113(3): 491–496, doi: 10.1016/j.amjcard.2013.10.034.
12. Cui Q.T., Li Y., Duan C.H., Zhang W., Guo X.L. Further evidence for the contribution of the vascular endothelial growth factor gene in coronary artery disease susceptibility. *Gene* 2013; 521(2): 217–221, doi: 10.1016/j.gene.2013.03.091.
13. Liu D., Song J., Ji X., Liu Z., Cong M., Hu B. Association of Genetic Polymorphisms on VEGFA and VEGFR2 with risk of coronary heart disease. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(19): e3413, doi: 10.1097/MD.0000000000003413.
14. Cheng H., Harris R.C. Renal endothelial dysfunction in diabetic nephropathy. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets* 2014; 14(1): 22–33.
15. Tanaka S., Tanaka T., Nangaku M. Hypoxia and Dysregulated Angiogenesis in Kidney Disease. *Kidney Dis. (Basel)* 2015; 1(1): 80–89, doi: 10.1159/000381515.
16. Bányász I., Bokodi G., Vásárhelyi B., Treszl A., Derzbach L., Szabó A., Tulassay T., Vannay A. Genetic polymorphisms for vascular endothelial growth factor in perinatal complications. *Eur. Cytokine Netw.* 2006; 17(4): 266–270.
17. Machado F.G., Kuriki P.S., Fujihara C.K., Fanelli C., Arias S.C., Malheiros D.M., Camara N.O., Zatz R. Chronic VEGF blockade worsens glomerular injury in the remnant kidney model. *PLoS One* 2012; 7(6): e39580, doi: 10.1371/journal.pone.0039580.
18. Eremina V., Sood M., Haigh J., Nagy A., Lajoie G., Ferrara N., Gerber H.P., Kikkawa Y., Miner J.H., Quaggin S.E. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J. Clin. Invest.* 2003; 111(5): 707–716.
19. Zeng F.C., Zeng M.Q., Huang L., Li Y.L., Gao B.M., Chen J.J., Xue R.Z., Tang Z.Y. Downregulation of VEGFA inhibits proliferation, promotes apoptosis, and suppresses migration and invasion of renal clear cell carcinoma. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 2131–2141, doi: 10.2147/OTT.S98002.
20. Martins D.P., Souza M.A., Baitello M.E., Nogueira V., Oliveira C.L., Pinhel M.A., Caldas H.C., Filho M.A., Souza D.R. Vascular endothelial growth factor as an angiogenesis biomarker for the progression of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Genet. Mol. Res.* 2016; 15(1), doi: 10.4238/gmr.15017623.
21. Chow K.M., Szeto C.C., Lai F.M., Poon P., Wong T.Y., Li P.K. Genetic polymorphism of vascular endothelial growth factor: impact on progression of IgA nephropathy. *Ren. Fail.* 2006; 28(1): 15–20.
22. Günesacar R., Opelz G., Erken E., Pelzl S., Döhler B., Ruhenstroth A., Süsal C. VEGF 936 C/T gene polymorphism in renal transplant recipients: association of the T allele with good graft outcome. *Hum. Immunol.* 2007; 68(7): 599–602.
23. Jiménez-Sousa M.A., Fernández-Rodríguez A., Heredia M., Tamayo E., Guzmán-Fulgencio M., Lajo C., López E., Gómez-Herreras J.I., Bustamante J., Bermejo-Martín J.F., Resino S. Genetic polymorphisms located in TGFB1, AGTR1, and VEGFA genes are associated to chronic renal allograft dysfunction. *Cytokine* 2012; 58(3): 321–326, doi: 10.1016/j.cyto.2012.02.017.
24. Mayer G. Capillary rarefaction, hypoxia, VEGF and angiogenesis in chronic renal disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011; 26(4): 1132–1137, doi: 10.1093/ndt/gfq832.
25. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17(1): 17–25.
26. Ballermann B.J., Obeidat M. Tipping the balance from angiogenesis to fibrosis in CKD. *Kidney Int. Suppl.* 2014; 4(1): 45–52.
27. Saluk J.L., Bansal V.K., Hoppensteadt D.A., Syed D.A., Abro S., Fareed J. Effect of erythropoietin stimulating agents on vascular endothelial growth factor levels in patients with end stage renal disease. *Int. Angiol.* 2017; 36(2): 197–201, doi: 10.23736/S0392-9590.16.03709-3.
28. Yang J.W., Hutchinson I.V., Shah T., Fang J., Min D.I. Gene polymorphism of vascular endothelial growth factor -1154 G>A is associated with hypertensive nephropathy in a Hispanic population. *Mol. Biol. Rep.* 2011; 38(4): 2417–2425, doi: 10.1007/s11033-010-0376-8.
29. Malkiewicz A., Słomiński B., Skrzypkowska M., Siebert J., Gutknecht P., Myśliwska J. The GA genotype of the -1154 G/A (rs1570360) vascular endothelial growth factor (VEGF) is protective against hypertension-related chronic kidney disease incidence. *Mol. Cell Biochem.* 2016; 418(1–2): 159–165, doi: 10.1007/s11010-016-2741-y.
30. Chade A.R. VEGF: Potential therapy for renal regeneration. *F1000 Med. Rep.* 2012; 4: 1, doi: 10.3410/M4-1.