



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

ISABELLA POSSATTI

**POLIMORFISMO DA REGIÃO CODANTE DO GENE *NOS3* EM
IDOSOS COM SÍNDROME METABÓLICA**

BRASÍLIA, 2019

ISABELLA POSSATTI

**POLIMORFISMO DA REGIÃO CODANTE DO GENE NOS3 EM IDOSOS COM
SÍNDROME METABÓLICA**

Monografia de Conclusão de Curso
apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de
Farmacêutico, Faculdade de
Ceilândia, Universidade de Brasília.

Orientador(a): Prof(a). Msc. Ligia Canongia de Abreu Cardoso Duarte

Co-orientador(a): Prof(a). Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2019

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

PP856p Possatti, Isabella
Polimorfismo da região codante do gene NOS3 em idosos com Síndrome Metabólica / Isabella Possatti; orientador Lígia Canongia de Abreu Cardoso Duarte; co-orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2019.
51 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. Síndrome Metabólica. 2. Diabetes Mellitus. 3. Hipertensão Arterial Sistêmica. 4. NOS3. 5. Polimorfismo Genético. I. Duarte, Lígia Canongia de Abreu Cardoso, orient. II. da Silva, Izabel Cristina Rodrigues, co-orient. III. Título.


ISABELLA POSSATTI

**POLIMORFISMO DA REGIÃO CODANTE DO GENE NOS3 EM IDOSOS COM
SÍNDROME METABÓLICA**

BANCA EXAMINADORA



Orientador(a): Prof(a). MSc. Ligia Canongia de Abreu Cardoso
(Centro Universitário Planalto do Distrito Federal – UNIPLAN)



Co-Orientador(a): Prof(a). Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(Universidade de Brasília – UnB)

Esp. Caroline Ferreira Fratelli
(Universidade de Brasília – UnB)

Esp. Aline Ribeiro Barros
(Universidade de Brasília – UnB)

BRASÍLIA, 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final desta jornada.

Agradeço aos meus pais Volmar José Possatti e Elizete Alves dos Santos Possatti por todo o esforço investido na minha educação e por sempre me incentivarem e acreditarem que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentou. Também agradeço a minha irmã Amanda Possatti pela amizade e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Sou grata as minhas amigas de pesquisa Camila Magalhães Garcia, Giovanna Rodrigues de Paula, Marcela dos Santos Teixeira e Maria Eduarda Justino, por toda a ajuda e apoio durante este período tão importante da minha formação acadêmica.

Gratifico a minha orientadora Ligia Canongia de Abreu Cardoso e co-orientadora Izabel Cristina Rodrigues da Silva por sempre estarem presentes para indicar a direção correta que o trabalho deveria tomar.

E por fim agradeço a todos os professores que estiveram presentes nessa caminhada de graduação, pela elevada qualidade do ensino oferecido e pelas lições de vida.

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por altos níveis de pressão arterial (PA). É constantemente associada a mudanças na funcionalidade ou na estrutura dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações no metabolismo. Outra doença crônica que se destaca na saúde pública é a diabetes mellitus (DM). A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a DM como uma síndrome de muitas etiologias, que pode ter como causa a falta de insulina ou a incapacidade da insulina exercer suas funções de maneira adequada. Essa doença é determinada pela hiperglicemia crônica e modificações no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. Essas duas doenças crônicas, são determinantes para a manifestação de outra enfermidade: A síndrome metabólica, que também se caracteriza como uma doença crônica, podendo levar a sérios problemas cardiovasculares. O gene da *NOS3* está localizado no cromossomo 7q 35-36 e compreende 26 éxons, englobando 26kb e codificando um mRNA de 4052 nucleotídeos. O presente trabalho analisou se a presença do polimorfismo VNTR no íntron 4 do gene *NOS3* na região codante difere nos pacientes com Síndrome Metabólica e/ou portadores de Hipertensão Arterial e/ou Diabetes Mellitus dos controles normotensos. Foi executada a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para identificar a presença dos genótipos D/D, I/D e I/I no íntron 4 em um estudo caso-controle com 94 pacientes idosas (com idade igual ou superior a 60 anos) do Distrito Federal. As associações com as manifestações clínicas foram feitas no programa SPSS versão 22.0. Foi analisada a probabilidade de equilíbrio de Hardy-Weinberg e Odds Ratio, considerando um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5%. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da FEPECS/SESDF sob o parecer nº 1.355;211. Verificou-se que das 94 pacientes, 71 evidenciaram a presença de hipertensão e 23 a ausência da doença, o valor de p obtido foi de 0,218. Quanto a Diabetes Mellitus, 49 idosas possuem o problema e 45 não possuem, o valor de p obtido foi de 0,372. Conclui-se que não há associação entre os genótipos do polimorfismo do gene *NOS3*, e a manifestação de Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus em idosas portadores da SM.

Palavras-Chave: *Síndrome Metabólica. Diabetes Mellitus. Hipertensão Arterial Sistêmica. NOS3. Polimorfismo genético.*

ABSTRACT

Systemic arterial hypertension (SAH) is a multifactorial clinical condition characterized by high blood pressure (BP) levels. It is constantly associated with changes in functionality or structural target organs (heart, brain, kidneys and blood vessels) and changes in metabolism. Another chronic disease that stands out in public health is diabetes mellitus (DM). The World Health Organization (WHO) defines DM as a syndrome of many etiologies, which may be caused by lack of insulin and / or the inability of insulin to perform its functions properly. This disease is determined by chronic hyperglycemia and changes in carbohydrate, lipid and protein metabolism. These two chronic diseases are crucial for the manifestation of another disease: Metabolic syndrome, which is also characterized as a chronic disease, can lead to serious cardiovascular problems. The *NOS3* gene is located on chromosome 7q 35-36 and comprises 26 exons, encompassing 26kb and encoding a 4052 nucleotide mRNA. The present work analyzed whether the presence of *NOS3* VNTR intron 4 polymorphism in the coding region differs in patients with Metabolic Syndrome and/or Arterial Hypertension and/or Diabetes Mellitus patients from normotensive controls. The Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was performed to identify the presence of D / D, I / D and I / I genotypes in intron 4 in a case-control study of 94 elderly patients (> 60 years) from the Federal District. Associations with clinical manifestations were made using the SPSS version 22.0 program. The probability of Hardy-Weinberg equilibrium and Odds Ratio was analyzed considering a confidence interval of 95% and a significance level of 5%. The study was approved by the FEPECS / SESDF Ethics Committee under Opinion No. 1,355; 211. Of the 94 patients, 71 showed the presence of hypertension and 23 absence of the disease, the p value obtained was 0.218. As for Diabetes Mellitus, 49 elderly women have the problem and 45 do not, the p value obtained was 0.372. It is concluded that there is no association between *NOS3* gene polymorphism genotypes and the manifestation of hypertension and diabetes mellitus in elderly women with MS.

Keywords: *Metabolic Syndrome. Diabetes Mellitus. Systemic Arterial Hypertension. NOS3. Genetic polymorphism.*

LISTA DE SIGLAS

CaP – Câncer de Próstata

CAP – Compulsão Alimentar Periódica

DCNT – Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DCV – Doenças Cardiovasculares

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

IAM - Infarto agudo do miocárdio

IDF - *International Diabetes Federation*

IMC – Índice de Massa Corpórea

JIS - *Joint Interim Statement*

NCEP-ATP III – *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*

NO – Óxido Nítrico

NOS3 – Óxido Sintase Endotelial

OMS – Organização Mundial da Saúde

PNSN – Pesquisa Nacional sobre Nutrição

RNA_m - RNA mensageiro

siRNA - RNA de interferência

SM – Síndrome Metabólica

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único

STR – *Short Tandem Repeat*

VNTR – *Variable Number Tandem Repeat*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Componentes da Síndrome Metabólica segundo o NCEP - ATP III	14
Tabela 2 – Sequência de Oligonucleotídeos.....	31
Tabela 3 – Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Hipertensão Arterial.....	32
Tabela 4 – Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Diabetes Mellitus.....	32
Tabela 5 – Dicotomização da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Diabetes Mellitus.....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do gene <i>NOS3</i>	20
Figura 2 – Polimorfismo <i>NOS3</i> 4a/b VNTR	21

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
Síndrome Metabólica	14
Obesidade.....	16
Perfil Nutricional.....	17
Polimorfismo Genético	18
Óxido Nítrico sintase endotelial (NOS3).....	19
NOS3 ÍNTRON 4.....	20
JUSTIFICATIVA	22
OBJETIVOS	23
Objetivo geral	23
Objetivos específicos	23
REFERÊNCIAS	24
ARTIGO.....	27
Resumo:.....	27
Abstract:.....	28
Introdução	28
Objetivo.....	30
Materiais e Métodos.....	30
Resultados	31
Discussão	33
Conclusão	34
Referências.....	34
ANEXO I – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA.....	37
ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE	40
ANEXO III – Termo de Guarda de Material Biológico	42
ANEXO IV – Ficha de Identificação.....	44
ANEXO V – NORMAS DO PERIÓDICO	46
ANÁLISE DOS TRABALHOS.....	46
ESTRUTURA DO TEXTO	46
Artigos originais.....	46

Comunicações breves.....	47
Artigos de revisão	47
Artigos de atualização.....	47
Relatos de caso	47
Cartas aos editores	47
REFERÊNCIAS.....	48
TABELAS E FIGURAS.....	49
ABREVIACÕES E NOMES DE MEDICAMENTOS	50

INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são enfermidades multifatoriais, definidas por diversos fatores, podendo ser sociais ou individuais. Desenvolvem-se no decorrer da vida e são de longa duração. As DCNT estão divididas em quatro grandes grupos: Doenças cardiovasculares, respiratórias crônicas, diabetes mellitus e neoplasias (BRASIL, 2018). Além de contribuírem com dois terços de todas as mortes no mundo. Isso se deve ao envelhecimento da população associados à globalização e à urbanização (ROCHA et al., 2016).

A adição desses fatores com a mudança nos padrões socioeconômicos e a transformação dos hábitos alimentares, facilitou o aparecimento das DCNT. As doenças cardiovasculares (DCV), em específico, possuem fatores de risco que devem ser observados como: a hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes, resistência insulínica e deposição central de gordura, pelo fato de estarem associadas com o risco de morbimortalidade cardiovascular. Esse conjunto de fatores que favorecem a ocorrência das DCV é definido como Síndrome Metabólica (SM) (RAMIRES et al., 2018).

Para a profilaxia da SM são necessárias ações não farmacológicas e farmacológicas em uma população saudável, porém os dados na literatura são escassos. Especialistas apontam que as estratégias de prevenção da SM devem ser as mesmas utilizadas no tratamento não farmacológico da síndrome. Redução de 5 a 10% em indivíduos com sobrepeso ou obesidade, adesão a uma dieta saudável, com baixa quantidade de gordura e início de atividade física por 30 min/dia (SIMÃO et al., 2013).

O óxido nítrico (NO) é essencial para o funcionamento do endotélio vascular, na prevenção da aterosclerose, hipertensão entre outras doenças cardiovasculares. O NO auxilia na regulação da vasodilatação, inibição da adesão de leucócitos nos vasos e inibição da agregação plaquetária, além do controle de proliferação das células musculares. Ele é produzido nas células endoteliais pela enzima sintase endotelial do óxido nítrico (NOS3), que converte o aminoácido arginina em NO e citrulina (GAMIL et al., 2017).

Na hipertensão, o mecanismo de aumento da pressão arterial pela deficiência de NO envolve elevação do tônus do sistema simpático, do sistema renina-

angiotensina e do estresse oxidativo. Todos os tipos de células, as endoteliais incluídas, possuem sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que atuam em conjunto para proteger o corpo de danos causados pelos radicais livres (NEVES; NEVES; OLIVEIRA, 2016).

Quanto à diabetes mellitus (DM), a exposição dos vasos à hiperglicemia e a elevação de ácidos graxos livres característicos do DM e resistência insulínica induzem à formação de superóxido e diminuem a biodisponibilidade de NO, o que pode ser revertido através de tratamentos com antioxidantes em algumas situações (SCHAAN; SILVA; IRIGOYEN, 2010).

Três principais polimorfismos do gene *NOS3* foram estudados em diferentes doenças associadas à nefropatia diabética em diferentes estudos: 894 G>T, repetição de 27 pb no intron 4 (VNTR) 4b /a variantes, e -786 T> C (MEDINA et al., 2018).

Say (2017) em seu estudo elucida o significado de VNTR: É um exemplo de variação estrutural no DNA que é uma grande repetição em tandem do número variável (VNTR), que significa uma sequência de DNA que é repetida várias vezes no genoma. O número de vezes da repetição da sequência em questão muda entre os indivíduos. O VNTR, portanto acaba se tornando uma grande fonte de informação como uma classe de marcadores para mapear o locus de uma doença em estudos de ligações familiares.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Síndrome Metabólica

A Síndrome Metabólica (SM) é uma doença que possui um caráter genético, ambiental e de característica plurimetabólica. É determinada por uma soma de fatores que aumentam o risco de enfermidades cardiovasculares, como a dislipidemia, tolerância anormal à glicose, hipertensão e obesidade, causas que estão ligadas a diabetes. (AZAMBUJA et al., 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a definição de Síndrome Metabólica tem como ponto de partida a resistência à insulina ou o distúrbio do metabolismo da glicose, o que torna difícil a sua utilização. A definição recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM) é o que o *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) elaborou como definição: a SM é representada pelo conjunto de pelo menos três dos componentes apresentados abaixo (Tabela 1). Como não exige uma confirmação de resistência insulínica, seu uso é favorecido.

Tabela 1 – Componentes da Síndrome Metabólica segundo o NCEP - ATP III

Componentes	Níveis
Obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal	
Homens	> 102 cm
Mulheres	> 88 cm
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dL
HDL Colesterol	
Homens	< 40 mg/dL
Mulheres	< 50 mg/dL
Pressão Arterial	≥ 130 mmHg ou ≥ 85 mmHg
Glicemia de jejum	≥ 110 mg/dL
A presença de <i>Diabetes mellitus</i> não exclui o diagnóstico de SM	

Fonte: I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica, 2005.

Ainda que se use o mesmo critério diagnóstico, a prevalência da SM revela grande variação entre populações idosas (entre 25% e 60%), por conta das composições variadas das populações nos fatores sexo, idade, etnia, fatores ambientais, entre outros. Em norte-americanos, que não possuem histórico de doença cardiovascular, a prevalência de síndrome metabólica atingiu 32,2% na faixa de 50 a 69 anos e 34,6% entre aqueles com 70 anos ou mais de idade. Em países de baixa renda, valores superiores foram observados, atingindo 36% entre idosos do México, 45% a 50% em cidades brasileiras e 58,1% na China. A prevalência da síndrome metabólica revela um aumento crescente ao longo do tempo (NEVES et al., 2019).

Devido à dificuldade de se descrever esse dado em uma população por conta da alta variação, Saad e colaboradores (2014), determinaram a prevalência de SM em idosos segundo quatro órgãos diagnósticos, e obtiveram como resultado, números elevados pelos quatro órgãos: OMS (51,9%), NCEP-ATPIII (45,2%), IDF (64,1%) e JIS (69,1%).

Somente 23,8% da população brasileira não apresentam nenhum dos componentes da SM, e 67,3% apresentam entre um e dois componentes, o que é preocupante, pois esses dados mostram um grande número de indivíduos sob o risco de desenvolver a SM propriamente dita (RAMIRES et al., 2018).

Calixto e colaboradores (2016) revelaram em estudo, que em 100 pacientes idosos de um hospital em Belém, 51 apresentavam SM, sendo que 33% eram mulheres e 18% eram homens, também foi apresentado, os principais fatores de risco para desenvolver doenças cardiovasculares (DCV) sendo o mais prevalente, o sedentarismo com 67%, hipertensão arterial sistêmica com 57%, dislipidemia com 44%, diabetes melitus com 21% e obesidade com 20%.

A obesidade e a SM estão interligados, pois esta primeira está associada à maior prevalência de fatores de risco cardiovascular e ao elevado risco de problemas cardiovasculares, contribuindo para o aumento global da morbidade e mortalidade por DCV (ROSA et al., 2016).

Obesidade

A obesidade é uma enfermidade caracterizada pelo acúmulo elevado de gordura corporal, que resulta em uma perda importante na qualidade de vida. Está relacionada direta ou indiretamente com outras condições patológicas que colaboram com a morbi-mortalidade, entre elas as doenças cardiovasculares e neoplásicas. O perfil de nutrição dos idosos brasileiros, citado nos dados da Pesquisa Nacional sobre Nutrição (PNSN), identificou prevalência de sobrepeso (IMC \geq 25 Kg/m²), maior em mulheres (50,2%) do que em homens (30,4%). A prevalência de obesidade (IMC \geq 30 Kg/m²) correspondeu a 5,7% para os homens e de 18,2% para as mulheres (ESKINAZI et al., 2015).

Em novembro de 2013, o *American Heart Association* em conjunto com o *American College of Cardiology* e *The Obesity Society* divulgou a Diretriz para o Manejo do Sobrepeso e da Obesidade em adultos, no qual passou a abordar a obesidade como uma doença. Essa escolha foi tomada devido a grande importância da prevenção das doenças coronarianas, e a inevitável necessidade de controlar o crescimento da obesidade no mundo. O ganho de peso é visto como um fator de risco para a síndrome metabólica. Segundo *National Health and Nutrition Examination Survey*, a síndrome metabólica está presente em 5% dos indivíduos com peso normal, 22% entre os que possuem sobrepeso e 60% dentre os obesos (YAMAMOTO; ARAUJO; LIMA, 2017).

Zoraski e colaboradores (2017) evidenciaram em seu estudo que a associação entre o Índice de Massa Corpórea (IMC) e a Síndrome Metabólica foi significativa: Idosos com ganho de peso apresentaram uma prevalência maior do transtorno metabólico. A associação se explica pelo fato de que a obesidade é a entrada para as DCNT e o envelhecimento favorece o aumento da gordura corporal, que se deposita na região abdominal, causando um aumento da circunferência da cintura, que é um critério para o diagnóstico.

O declínio da massa muscular, que ocorre com o processo de envelhecimento, em conjunto com a força diminuída e o desempenho físico dificultado, é definido como sarcopenia e, quando esta doença está associada com o excesso de gordura corpórea, é definida com obesidade sarcopênica (SANTOS et al., 2017). Uma teoria que é aceita, é que a obesidade é fator de risco para síndrome metabólica e o estresse inflamatório gerado pelo tecido adiposo em excesso, afeta a massa

muscular esquelética negativamente, aumentando a chance de se desenvolver a obesidade sarcopênica e facilitando o risco de se desenvolver a síndrome metabólica (MANDA, 2013).

Perfil Nutricional

Uma alimentação balanceada é um fator de grande importância para a profilaxia e tratamento da SM. O consumo dos alimentos certos contribui para a diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeos, evitando a formação de placas de gordura nas artérias. Alimentos que são fontes de antioxidantes como o ômega 3 e as antocianinas, atuam na luta contra os radicais livres, evitando a oxidação do colesterol LDL, aumentando a ação antiinflamatória, diminuindo a obesidade e pressão arterial (MURUCI; FRANCISCO; ALVES, 2015).

Gusmão e colaboradores (2014) em seu estudo analisaram indicadores dietéticos como critérios para o diagnóstico para a SM, e tiveram como resultado que hábitos alimentares com maior teor lipídico contém uma maior quantidade de energia, por conta da sua contribuição de 9kcal/g. Em relação ao sódio, foi observado que em comunidades que ingerem uma quantidade superior a 2300mg/dia, desenvolvem a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). Enquanto populações que ingerem menos de 1150mg/dia, a chance de desenvolver hipertensão é rara. Isso se deve ao fato do sódio ser um dos fatores de risco mais relevantes para a hipertensão arterial, por aumentar a mortalidade pelas DCV.

Carvalho (2017), em seu estudo, considerou o papel do sódio na fisiopatologia da HAS, que é um dos fatores mais frequentes em portadores da Síndrome Metabólica. Os dados dos hábitos alimentares mostraram um alto consumo de sódio, por parte dos indivíduos com SM, com uma média de 2792,82mg/dia, o que corresponde cerca de 7g de sal.

Franco e colaboradores (2018) avaliou a compulsão alimentar em pacientes com Síndrome Metabólica, e teve como resultado a presença de compulsão alimentar periódica (CAP) em 57% das mulheres avaliadas. Os pacientes eram em sua maioria mais jovens (20 a 39 anos) e não possuíam boa qualidade de vida. Nesse estudo também foi observado que 60% das pessoas com CAP apresentaram quadros mais longos de obesidade, que é outro fator importante para a ocorrência de SM.

Polimorfismo Genético

O genoma humano codifica informações para a expressão dos genes, que tem variação nos tipos celulares e entre a população. Estudos que explicam como a regulação e a expressão gênica têm variado nos seres humanos abriram portas para compreender melhor as origens moleculares das doenças mais complexas (CONSORTIUM, 2017). Versões diversas de uma sequência de DNA em um local cromossômico (*locus*) são chamadas de alelos. O polimorfismo genético acontece quando variadas formas alélicas de um mesmo *locus* podem ser observadas em pelo menos 1% em uma população (STIPP et al., 2013).

Os Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são denominados como uma variação em que ocorre a troca de apenas uma base nitrogenada e pode se manifestar em 1 a cada 1.000 pares de base. São comuns nos seres humanos e estão envolvidos em diversas doenças. Eles podem ser encontrados em várias regiões do gene: promotora, codificadora e não codificadora. Os SNPs na região promotora e codificadora têm uma chance maior de alterar a funcionalidade do gene e em consequência, a proteína que eles produzem (MARQUI, 2015).

Existe também um polimorfismo conhecido como microssatélites ou sequências curtas repetidas *in tandem*, do inglês “*Short Tandem Repeats*” (STRs), são repetições curtas de sequências de DNA de 1 a 6 pares de base que podem ser determinados de acordo com seu tamanho e o tipo de unidade que se repete. Essas regiões repetitivas são sequentes tanto em eucariotos quanto em procariotos (ZANELLA et al., 2017).

Além das sequências curtas, encontram-se as longas, como a repetição *in tandem* do número variável, em inglês “*Variable Number Tandem Repeat*” (VNTR). É um termo que se usa quando uma sequência de DNA é repetida várias vezes no genoma e que são herdadas de forma mendeliana. Antigamente, eram vistos como “DNA-lixo”, porém a quantidade de vezes que a sequência se repete é divergente entre indivíduos, o que mostra que o VNTR pode sim ser considerado um polimorfismo. Acredita-se que tenha surgido devido a erros durante a replicação do DNA e que representem 3% do genoma. São encontrados em regiões promotoras e locais funcionais dentro dos genes, o que pode indicar um impacto sobre vários genótipos (BROOKES, 2013).

Essas variações genéticas conferem um fator de risco ou proteção quando a proteína codificada por um gene que sofre mutação participa dos processos biológicos, porém nem todo polimorfismo tem um significado. A presença de alelos polimórficos em uma população que não é afetada reflete que alguns polimorfismos não são determinantes no surgimento de doenças (TELES,2013).

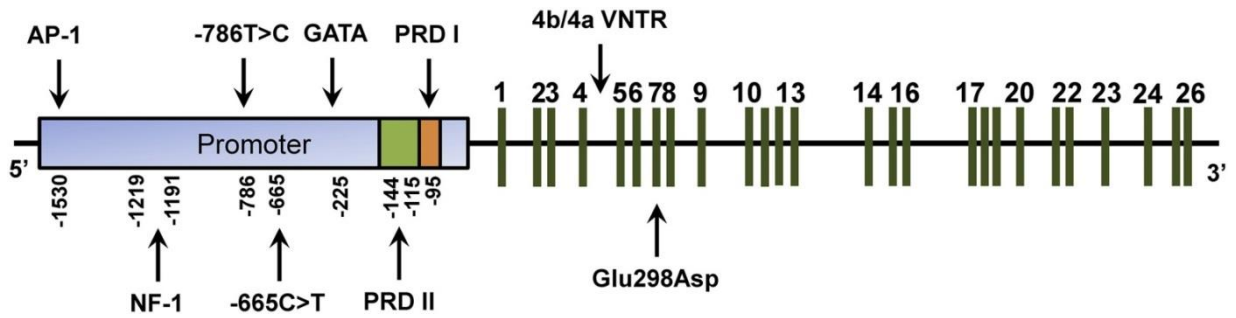
Óxido Nítrico sintase endotelial (*NOS3*)

A sintase endotelial do óxido nítrico (*NOS3*) é uma enzima que se expressa principalmente no endotélio celular. É responsável pela biodisponibilidade de óxido nítrico a níveis endoteliais. Mudanças na produção e funcionalidade do NO nas células endoteliais, sugerem associação com várias doenças, e nos seres humanos, a genética se apresenta como um fator determinante devido aos polimorfismos da *NOS3* que podem se manifestar (VECOLI, 2014).

O óxido nítrico é uma substância que possui uma importante contribuição na regulação vascular. É responsável pelo relaxamento dos músculos, supressão da adesão plaquetária e leucocitária no endotélio, na eliminação de radicais superóxido além de limitar a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, levando a um efeito vasoprotetor. É sintetizado a partir do aminoácido L-arginina por três formas da NO sintase: NOS indutível, neuronal e endotelial. Portanto, esse elemento endógeno passa a ser considerado um inibidor de uma série de processos que conduzem a formação de placas ateroscleróticas. O aumento ou diminuição da produção de óxido nítrico está relacionada às mutações que o gene *NOS3* pode sofrer (RAI et al., 2014).

O gene da sintase do óxido nítrico endotelial está localizado no cromossomo 7q 35-36, compreende 26 éxons e 25 íntrons, englobando 26kb e codificando um mRNA de 4052 nucleotídeos (Figura 1). Os polimorfismos da *NOS3* incluem SNPs e seqüências de repetições tandem variáveis (VNTR). A variabilidade da expressão endotelial da *NOS3* por causa de seus polimorfismos tem sido uma causa considerável de morbidade e mortalidade cardiovascular. Estudos revelaram uma relação positiva da manifestação da *NOS3* em pacientes com insuficiência cardíaca e demonstram que um aumento da produção de óxido nítrico pode ser um componente significativo na insuficiência cardíaca (MATSA et al., 2013).

Figura 1 – Estrutura do gene *NOS3*



Fonte: OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H.; LACCHINI, Riccardo; TANUS-SANTOS, Jose E., 2016.

Kallel e colaboradores (2013) analisaram se havia relação entre os polimorfismos da *NOS3* e o risco de sofrer infarto agudo do miocárdio (IAM) em uma população Tunisiana, e obtiveram um resultado significativo dos polimorfismos. A distribuição genotípica e frequência alélica do polimorfismo *NOS3* 4a/b, foram diferentes entre os pacientes que sofreram infarto e os controles. Além disso, houve associação significativa deste polimorfismo com o IAM, segundo modelos dominantes, recessivos e co-dominantes.

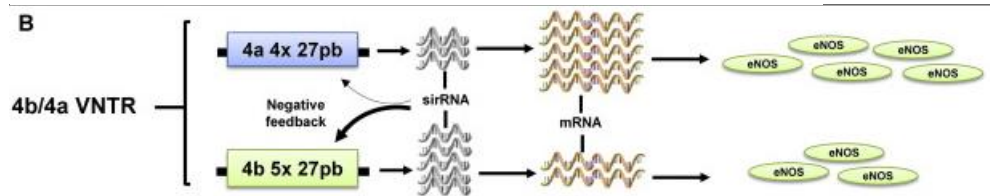
Nasr e colaboradores (2016) observaram também em uma população Tunisiana que o polimorfismo G894T mostrou ser um risco elevado para a obesidade e permanece sendo significativa quando as variáveis se ajustam para a idade e o sexo, tanto que os homens obesos apresentaram maior frequência de genótipos TT quando comparados aos controles. Quanto ao polimorfismo 4a/b, os portadores do alelo b mostraram um risco superior de obesidade comparado aos não portadores. Os resultados também revelaram que quem porta os genótipos TT e BB, possuem um índice de massa corporal maior do que os homocigotos para o G e seus alelos.

***NOS3* ÍNTRON 4**

O polimorfismo da *NOS3* íntron 4 se caracteriza como um VNTR, pois há a repetição de 27 pares de base. Ele regula a *NOS3* de maneira pós transcricional, alterando a formação do pequeno RNA de interferência (siRNA). Conhecido como polimorfismo 4b/4a VNTR, a variante 4a (com quatro cópias) e a variante 4b (com cinco cópias), são os alelos mais comuns, dessa fração de 27pb (Figura 2). Estudos

revelam que as células endoteliais portando a variante 4b apresenta uma maior quantidade de sirRNA, resultando em níveis baixos de RNAm de *NOS3* quando comparadas a variante 4a (OLIVEIRA-PAULA; LACCHINI; TANUS-SANTOS, 2016).

Figura 2 – Polimorfismo *NOS3* 4a/b VNTR



Fonte: OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H.; LACCHINI, Riccardo; TANUS-SANTOS, Jose E., 2016.

VNTRs que se localizam em sequências reguladoras transformam a expressão gênica, mudando a quantidade de sítios de ligação do fator de transcrição. Essa expressão pode ser alterada também pela mudança da atividade das proteínas de ligação ou por efeitos que mexem na estrutura da cromatina (ARNING et al., 2013).

Safarinejad e colaboradores (2013) estudaram a associação entre os polimorfismos da *NOS3* e o risco de câncer de próstata (CaP). Em relação às variantes 4a/4b, foi observado que eles estavam associados a um risco aumentado de CaP de uma forma dependente de dose alélica. Genótipos com a presença do alelo “a” desse polimorfismo, dispõem os pacientes a um grau superior de CaP avançado.

O polimorfismo *NOS3* 4a/b pode estar relacionado ao câncer de mama, por conta da produção excessiva dos níveis de óxido nítrico sintase e por consequência óxido nítrico, o que leva a uma alta produção de EROs, que causaria uma instabilidade genética, consequentemente, uma progressão tumoral e metástase ao estimular a via oncogênica (RAMÍREZ-PATIÑO et al., 2013).

JUSTIFICATIVA

Gamil e colaboradores (2017) observaram que o *NOS3* aparece como um gene candidato para a hipertensão. A associação entre o gene e a doença é amplamente estudada. O polimorfismo do *NOS3* (VNTR) no íntron 4 está entre os mais estudados e investigados, a variante está associada com as DCV, incluindo a doença da artéria coronária e infarto do miocárdio. Entender esse polimorfismo e o papel que este desempenha na hipertensão, trás um melhor entendimento sobre as causas e dá a chance de uma profilaxia mais efetiva se feita antes da enfermidade apresentar complicações.

Além do fato da hipertensão ser um dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, logo, está intimamente ligado a Síndrome Metabólica. Quanto mais informações forem divulgadas sobre esses fatores, maior será a percepção da importância de se estudar o gene e seus polimorfismos, que auxiliam na realização de um tratamento mais rápido e eficaz e na melhora da qualidade de vida do portador.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar se existe diferença estatística entre o polimorfismo íntron 4 do gene *NOS3* com a Hipertensão e/ou Diabetes Mellitus em portadoras de Síndrome Metabólica.

Objetivos específicos

Descrever as frequências alélicas e genóticas dos polimorfismos *NOS3* íntron 4;

Avaliar as diferentes manifestações clínicas da Síndrome Metabólica;

Investigar a associação entre o polimorfismo *NOS3* íntron 4 e as manifestações clínicas da Síndrome Metabólica.

REFERÊNCIAS

ARNING, Larissa et al. PCSK6 VNTR Polymorphism Is Associated with Degree of Handedness but Not Direction of Handedness. *Plos One*, [s.l.], v. 8, n. 6, p.1-5, 27 jun.2013.

AZAMBUJA, Cati Reckelberg et al. O diagnóstico da síndrome metabólica analisado sob diferentes critérios de definição. *Revista Baiana Saúde Pública*, [s.l.], v. 39, n. 3, p.482-496, 1 set. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sobre a Vigilância de DCNT. Brasília, DF, 19 abr. 2018.

BROOKES, K.j.. The VNTR in complex disorders: The forgotten polymorphisms? A functional way forward?. *Genomics*, [s.l.], v. 101, n. 5, p.273-281, maio 2013.

CALIXTO, Sheyla Cristina Souza et al. Prevalência da Síndrome Metabólica em Idosos. *Revista Saúde em Foco*, [s.l.], v. 3, n. 2, p.119-135, 1 jul. 2016.

CARVALHO, Giovanna Melo de. CONSUMO ALIMENTAR E DIETÉTICO DE SÓDIO EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME METABÓLICA. 2017. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2017.

CONSORTIUM, Gtex. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature*, [s.l.], v. 550, n. 7675, p.204-213, dez. 2017.

DIAS, Orlene Veloso et al. Diabetes mellitus em Montes Claros:: Inquérito de prevalência autorreferida. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde, Fortaleza*, v. 29, n. 3, p.406-413, ago. 2016.

ESKINAZI, Fernanda Maria Vieira et al. Envelhecimento e a Epidemia da Obesidade. *Journal Of Health Sciences*, [s.l.], p.295-298, 2015.

FRANCO, Cláudia Rocha et al. Compulsão alimentar periódica: aspecto negligenciado na abordagem de pacientes com síndrome metabólica. *Hu Revista, Juiz de Fora*, v. 44, p.165-173, 2018.

GAMIL, Sahar et al. Association of NOS3 gene polymorphisms with essential hypertension in Sudanese patients: a case control study. *Bmc Medical Genetics*, [s.l.], v. 18, n. 1, p.128-137, 13 nov. 2017.

GUSMÃO, Laís Silveira et al. Utilização de indicadores dietéticos como critérios prognósticos da Síndrome Metabólica. *Revista da Associação Brasileira de Nutrição, São Paulo*, v. 6, p.37-46, 2014.

KALLEL, Amani et al. Polymorphisms of the NOS3 gene and risk of myocardial infarction in the Tunisian population. *Cytokine*, [s.l.], v. 64, n. 3, p.646-651, dez. 2013.

MANDA, Rodrigo Minoru. Obesidade Sarcopênica: diagnóstico, prevalência e associações com aptidão física, resistência insulínica, estresse inflamatório e

oxidativo. 2013. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

MARQUI, Alessandra Bernadete Trovó de. Síndrome de Turner e polimorfismo genético: uma revisão sistemática. *Revista Paulista de Pediatria*, [s.l.], v. 33, n. 3, p.363-370, set. 2015.

MATSA, Lova Satyanarayana et al. Haplotypes of *NOS3* Gene Polymorphisms in Dilated Cardiomyopathy. *Plos One*, [s.l.], v. 8, n. 7, p.1-5, 29 jul. 2013.

MEDINA, Alejandro Marín et al. *NOS3* Polymorphisms and Chronic Kidney Disease. *Brazilian Journal Of Nephrology*, [s.l.], v. 40, n. 3, p.273-277, 28 maio 2018.

MURUCI, Gilmara Reis; FRANCISCO, Iolanda; ALVES, Mirna Albuquerque Ribeiro. Prevalência dos Componentes Associados a Síndrome Metabólica no Brasil e Revisão Crítica dos Fatores Dietéticos Associados a Prevenção e ao Tratamento. *Rede de Cuidados em Saúde*, Rio de Janeiro, v. 9, p.1-15, 2015.

NASR, Hela Ben et al. Functional G894T (rs1799983) polymorphism and intron-4 VNTR variant of nitric oxide synthase (*NOS3*) gene are susceptibility biomarkers of obesity among Tunisians. *Obesity Research & Clinical Practice*, [s.l.], v. 10, n. 4, p.465-475, jul. 2016.

NEVES, Cristiane Vilas Boas et al. Associação entre síndrome metabólica e marcadores inflamatórios em idosos residentes na comunidade. *Cadernos de Saúde Pública*, [s.l.], v. 35, n. 3, p.1-14, 25 mar. 2019.

NEVES, Josynaria Araújo; NEVES, Josyanne Araújo; OLIVEIRA, Rita de Cássia Meneses. Biomarcadores de função endotelial em doenças cardiovasculares: hipertensão. *Jornal Vascular Brasileiro*, [s.l.], v. 15, n. 3, p.224-233, 24 out. 2016.

OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H.; LACCHINI, Riccardo; TANUS-SANTOS, Jose E. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of *NOS3* polymorphisms. *Gene*, [s.l.], v. 575, n. 2, p.584-599, jan. 2016.

RAI, Himanshu et al. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Coronary Artery Disease: An Updated Meta-Analysis and Systematic Review. *Plos One*, [s.l.], v. 9, n. 11, p.1-19, 19 nov. 2014. Public Library of Science (PLoS).

RAMIRES, Elyssia Karine Nunes Mendonça et al. Prevalence and Factors Associated with Metabolic Syndrome among Brazilian Adult Population: National Health Survey - 2013. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, [s.l.], p.455-466, 2018.

ROCHA, Fabiana Lucena et al. Factors associated with metabolic syndrome among the elderly in the northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, [s.l.], v. 19, n. 6, p.978-986, dez. 2016.

ROSA, Carolina Böettge et al. Síndrome metabólica e estado nutricional de idosos cadastrados no HiperDia. *Scientia Medica*, [s.l.], v. 26, n. 3, p.1-8, 26 jul. 2016.

SAAD, Maria Auxiliadora Nogueira et al. Prevalence of Metabolic Syndrome in Elderly and Agreement among Four Diagnostic Criteria. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, [s.l.], p.1-7, 2014.

- SAFARINEJAD, Mohammad Reza et al. Effects of the T-786C, G894T, and Intron 4 VNTR (4a/b) polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene on the risk of prostate cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, [s.l.], v. 31, n. 7, p.1132-1140, out. 2013.
- SANTOS, Vanessa Ribeiro dos et al. Obesity, sarcopenia, sarcopenic obesity and reduced mobility in Brazilian older people aged 80 years and over. *Einstein (São Paulo)*, [s.l.], v. 15, n. 4, p.435-440, 18 dez. 2017.
- SAY, Yee-how. The association of insertions/deletions (INDELs) and variable number tandem repeats (VNTRs) with obesity and its related traits and complications. *Journal Of Physiological Anthropology*, [s.l.], v. 36, n. 1, p.25-42, 14 jun. 2017.
- SCHAAN, Beatriz D'agord; SILVA, Antônio Marcos Vargas da; IRIGOYEN, Maria Cláudia. Disfunção endotelial no diabetes melito e estados de resistência à insulina: papel do estresse oxidativo e potenciais oportunidades terapêuticas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, [s.i], v. 6, n. 54, p.514-515, 2010.
- SIMÃO, Af et al. I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, [s.l.], v. 101, n. 6, p.1-63, 2013.
- STIPP, A.t. et al. Polimorfismos genéticos da kappa-caseína e da beta-lactoglobulina e produção de leite em bovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, [s.i], v. 65, p.275-280, 2013.
- TELES, Patricia de Barros. Polimorfismo genético da apolipoproteína E e avaliação sociodemográfica em pacientes com periodontite crônica. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- TRATAMENTO, DIAGNÓSTICO E. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 84, Suplemento 1, 2005.
- TUMA, Maria Angela Figueiredo et al. Hipertensão Arterial, consumo de suplementos alimentares e esteroides anabólicos androgênicos em alunos de curso de Educação Física. *Corpo e Movimento: Educação Física*, [s.i], v. 6, p.17-23, 2015.
- VECOLI, Cecilia. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms in Cardiovascular Disease. *Vitamins & Hormones*, [s.l.], p.387-406, 2014.
- YAMAMOTO, Heloisa Harumi; ARAUJO, Jacqueline Montalvão; LIMA, Sônia Maria Rolim Rosa. Síndrome metabólica após a menopausa: prevalência da hipertensão arterial em mulheres com sobrepeso e obesidade. *Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo*, [s.l.], p.1-6, 2017.
- ZANELLA, Camila Martini et al. Microssatélites: Metodologias de identificação e análise. *Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações*, Ribeirão Preto, p.94-117, set. 2017.
- ZORASKI, Helena et al. Síndrome metabólica em idosos de Nova Roma do Sul, RS: prevalência e fatores associados. *Abcs Health Sciences*, [s.l.], v. 42, n. 3, p.147-155, 11 dez. 2017.

ARTIGO

Título: Polimorfismo da região codante do gene *NOS3* em idosos com Síndrome Metabólica.

Autores: Possatti I¹, Duarte LCAC¹, Lima LR¹, Stival MM¹, Funghetto SS¹, Silva ICR¹, Freitas RS², Silva CMS³

¹Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE

²Centro Universitário do Distrito Federal – UDF

³Universidade de Brasília – UnB

Resumo: A Síndrome Metabólica (SM) é uma doença crônica que se caracteriza por uma soma de fatores que aumentam o risco de enfermidades cardiovasculares, como a dislipidemia, hipertensão e obesidade, causas que estão ligadas a diabetes. A prevalência da SM apresenta elevada variação entre populações idosas (entre 25% e 60%), devido as diferentes composições das populações nos fatores sexo, idade, etnia e fatores ambientais. A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é um fator determinante para o desenvolvimento de SM. Por consequência é extremamente importante manter os níveis de pressão sistólica e diastólica inferiores a 140 mmHg e 90 mmHg. O Diabetes Mellitus (DM) se manifesta por causa de alterações no metabolismo da glicose resultando em hiperglicemia. Podendo assim levar a disfunções e/ou insuficiências cardíacas e vasculares. O gene da sintase do óxido nítrico endotelial (*NOS3*) está localizado no cromossomo 7q 35-36, compreende 26 éxons e 25 íntrons, englobando 26kb e codificando um mRNA de 4052 nucleotídeos. O presente estudo analisou se a presença do polimorfismo íntron 4 do gene *NOS3* na região codante difere nos pacientes com Síndrome Metabólica e portadores de Hipertensão Arterial e/ou Diabetes Mellitus dos controles normotensos. Foi executada a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para identificar a presença dos genótipos D/D, I/D e I/I no íntron 4 em um estudo caso-controle com 94 pacientes idosas (com idade igual ou superior a 60 anos) do Distrito Federal. As associações com as manifestações clínicas foram feitas no programa SPSS versão 22.0. Foi analisada a probabilidade de equilíbrio de Hardy-Weinberg e Odds Ratio, considerando um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5%. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da FEPECS/SESDF sob o parecer nº 1.355;211. Verificou-se que das 94 pacientes, 71 evidenciaram a presença de hipertensão e 23 a ausência da doença, o valor de p obtido foi de 0,218. Quanto a Diabetes Mellitus, 49 idosas possuem o problema e 45 não possuem, o valor de p obtido foi de 0,372. Conclui-se que não há associação entre os genótipos do polimorfismo do gene *NOS3*, e a manifestação de Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus em idosas portadores da SM.

Palavras-Chave: *Síndrome Metabólica. Diabetes Mellitus. Hipertensão Arterial Sistêmica. NOS3. Polimorfismo genético.*

Título em inglês: *NOS3* gene coding region polymorphism in the elderly with Metabolic Syndrome.

Abstract: Metabolic Syndrome (MS) is a chronic disease characterized by a sum of factors that increase the risk of cardiovascular disease, such as dyslipidemia, hypertension and obesity, causes that are linked to diabetes. The prevalence of MS presents high variation among elderly populations (between 25% and 60%), due to different population composition in sex, age, ethnicity and environmental factors. Systemic Arterial Hypertension (SAH) is a determining factor for the development of MS. It is therefore extremely important to maintain systolic and diastolic pressure levels below 140 mmHg and 90 mmHg. Diabetes Mellitus (DM) manifests itself because of changes in glucose metabolism resulting in hyperglycemia. May lead to cardiac and vascular dysfunction and / or insufficiency. The endothelial nitric oxide synthase gene (*NOS3*) is located on chromosome 7q 35-36 and comprises 26 exons and 25 introns, encompassing 26kb and encoding a 4052 nucleotide mRNA. The present study analyzed whether the presence of *NOS3* intron 4 polymorphism in the coding region differs in patients with Metabolic Syndrome and Arterial Hypertension and/or Diabetes Mellitus patients from normotensive controls. The Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was performed to identify the presence of D / D, I / D and I / I genotypes in intron 4 in a case-control study of 94 elderly patients (> 60 years) from the Federal District. Associations with clinical manifestations were made using the SPSS version 22.0 program. The probability of Hardy-Weinberg equilibrium and Odds Ratio was analyzed considering a confidence interval of 95% and a significance level of 5%. The study was approved by the FEPECS / SESDF Ethics Committee under Opinion No. 1,355; 211. Of the 94 patients, 71 showed the presence of hypertension and 23 absence of the disease, the p value obtained was 0.218. As for Diabetes Mellitus, 49 elderly women have the problem and 45 do not, the p value obtained was 0.372. It is concluded that there is no association between *NOS3* gene polymorphism genotypes and the manifestation of hypertension and diabetes mellitus in elderly women with MS.

Keywords: *Metabolic Syndrome. Diabetes Mellitus. Systemic Arterial Hypertension. NOS3. Genetic polymorphism.*

Introdução

A Síndrome Metabólica (SM) tem como uma de suas características a presença de obesidade visceral, dislipidemia e hipertensão arterial. Desse modo, há associação da patologia no aumento do risco de doenças cardiovasculares e de desenvolvimento de Diabetes Mellitus 2. A prevalência da SM não é exata, pois há muita variação de acordo com a população estudada (sexo, idade, raça e etnia). A etiopatogenia da SM é controversa. Porém, evidências sugerem que as principais causas que levam a manifestação desses fatores são a resistência à insulina e a obesidade visceral, motivo pelo qual o tratamento da obesidade é considerado primordial para os indivíduos que portam essa doença¹.

Uma revisão sistemática feita por Fogal, Ribeiro, Priori e Franceschini (2014), revelou que na maioria dos estudos que mostravam dados separados por sexo, as mulheres apresentavam maior prevalência da síndrome metabólica em relação aos homens. Isso acontece por conta das possíveis alterações metabólicas e hormonais sofridas, principalmente no período da menopausa. Quando se baseava na idade, a prevalência aumentava em conjunto com o tempo de vida².

O uso de indicadores clínicos e antropométricos pode ajudar na identificação da SM. Exemplos de indicadores clínicos são: O produto da acumulação lipídica (PAL) e o índice de adiposidade visceral (IAV). E um exemplo bem conhecido de indicador antropométrico é o índice de massa corporal (IMC). O uso de indicadores para detectar a SM pode facilitar o processo na prática clínica, por ser simples, rápido e funcional³.

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é o principal fator de risco para a mortalidade, portanto o controle adequado se faz extremamente necessário, embora a tecnologia e a ciência estejam em constante evolução⁴. Esse controle apropriado da HAS é definido pelos níveis de pressão sistólica e diastólica ≤ 120 mmHg e ≤ 80 mmHg⁵.

Por ser considerada, ao mesmo tempo, uma doença e um fator de risco, por estar diretamente relacionada à doença arterial coronariana e acidente vascular encefálico, essa doença representa um grande desafio para a saúde pública, pois as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte no Brasil. A detecção e o tratamento da HAS são essenciais para a redução das causas cardiovasculares⁶. Sua prevalência no Brasil varia entre 22% e 44% para adultos, aumentando para 50% para as pessoas entre 60 a 69 anos e 75% para quem possui mais de 70 anos⁷.

O Diabetes Mellitus (DM) afeta mais de 382 milhões de pessoas no mundo, sendo 11,9 milhões de nacionalidade brasileira. Em pessoas com mais de 65 anos de idade, esse número aumenta, configurando-se como uma das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) mais comuns em idosos. O DM acontece devido a distúrbios no metabolismo da glicose resultando em hiperglicemia. Podem provocar complicações que levam a disfunções e/ou insuficiências cardíacas e vasculares. Com o objetivo evitar os agravos dessa enfermidade, se faz necessário a revisão dos hábitos alimentares, a prática de atividades físicas, consultar periodicamente profissionais de saúde e utilizar medicamentos adequados⁸.

O gene da sintase do óxido nítrico endotelial (*NOS3*) está localizado no cromossomo 7q 35-36 e compreende 26 éxons, englobando 26kb e codificando um mRNA de 4052 nucleotídeos. Pesquisas apresentam uma associação positiva da manifestação da *NOS3* em pacientes com insuficiência cardíaca e evidenciam que um nível aumentado da produção de óxido nítrico pode ser um componente significativo na doença⁹.

A *NOS3* é uma enzima que se expressa principalmente no endotélio celular, e é responsável pela biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) a níveis endoteliais. O NO é uma substância que possui uma importante contribuição na regulação vascular¹⁰. É responsável pelo relaxamento dos músculos, supressão da adesão plaquetária e leucocitária no endotélio, na eliminação de radicais superóxido além de limitar a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, levando a um efeito vasoprotetor¹¹.

O VNTR localizado no íntron 4 do *NOS3* está intimamente associado com a concentração de óxido nítrico no plasma. Tal polimorfismo possui uma sequência de 27 pares de base, onde há um alelo maior e outro menor. O alelo maior “a” possui 5 repetições *in tandem* de 27 pares de base, enquanto o alelo menor “b” possui 4 repetições¹².

Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo investigar o perfil genético e se o polimorfismo do gene *NOS3* na região codante difere nos pacientes com síndrome metabólica e/ou portadores de hipertensão arterial e diabetes dos controles normotensos.

Materiais e Métodos

As amostras utilizadas provieram de 94 idosas com idade igual ou superior a 60 anos que residem no Distrito Federal (Brasil) e que fazem parte de uma equipe de Estratégia em Saúde da Família (ESF) das Unidades Básicas de Saúde (UBS) número 06 e 08 de Ceilândia.

O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do kit *Invisorb Spin Blood Mini Kit (250)* da empresa Invitex. A concentração do DNA obtido foi estimada pelo espectrofotômetro NANODROP Technologies Inc., Wilmington, DE, USA. A concentração média alcançada foi de 20 ng/μL. Além disso, foi realizada a técnica de

PCR (Reação em cadeia da Polimerase) no termociclador TC-512. Essa técnica permite que uma região selecionada do genoma (gene *NOS3*, localização 7q36), seja amplificada milhões de vezes.

As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar o polimorfismo se seguem na tabela abaixo:

Tabela 2 – Sequência de Oligonucleotídeos.

Gene	Oligonucleotídeos
NOS3 íntron 4	<i>Foward</i> 5' AGG CCC TAT GGT AGT GCC TT 3'
	<i>Reverse</i> 5' TCT CTT AGT GCT GTG GTC AC 3'

Fonte: Própria autora

Para a amplificação do gene *NOS3* na região do íntron 4 foi realizada a desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos 60°C por 30 segundos e extensão 72°C por 1 minuto. Extensão final 72°C por 10 minutos, gerando fragmentos de DNA de 420 pb (alelo b) e/ou 323pb (alelo a).

Os produtos da PCR foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio em uma potência de 100W por 20 minutos.

Em seguida, foi inserido o perfil genético dos indivíduos e suas manifestações clínicas no programa SPSS na versão 25.0, para analisar se existe uma associação entre o polimorfismo estudado e a síndrome metabólica em idosos. Foi adotado um nível de significância de 5% e foi utilizado o teste de Fisher e Qui-Quadrado.

Resultados

A partir do programa SPSS, obteve-se o seguinte resultado: Das 71 idosas, que possuem hipertensão (Tabela 3), 9 (12,7%) possuem o genótipo A/A, 29 (40,8%) possuem o genótipo A/B e 33 (46,5 %) possuem o genótipo B/B. Quanto a ausência de hipertensão (23 idosas), nenhuma possui o genótipo A/A, 10 (43,5%) possuem o genótipo A/B e 13 (56,5%) possuem o genótipo B/B. O valor de p obtido foi de 0,192.

Tabela 3 – Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Hipertensão Arterial.

		Hipertensão Arterial				p
		sim		não		
		n	%	n	%	
NOS3 27-pb-VNTR	A/A	9	12,7%	0	0,0%	0,192
	A/B	29	40,8%	10	43,5%	
	B/B	33	46,5%	13	56,5%	
	Total	71	100%	23	100%	

Fonte: Própria Autora

Quando se analisa a diabetes mellitus (Tabela 4), Das 49 idosas que possuem a doença, 5 (10,2%) possuem o genótipo A/A, 17 (34,7%) possuem o genótipo A/B e 27 (55,1%) possuem o genótipo B/B. Quanto a ausência de diabetes (45 idosas), 4 (8,9%) possuem o genótipo A/A, 22 (48,9%) possuem o genótipo A/B e 19 (42,2%) possuem o genótipo B/B. Obteve-se um valor de p de 0,372.

Tabela 4 – Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Diabetes Mellitus.

		Diabetes Mellitus				p
		sim		não		
		n	%	n	%	
NOS3 27-pb-VNTR	A/A	5	10,2%	4	8,9%	0,372
	A/B	17	34,7%	22	48,9%	
	B/B	27	55,1%	19	42,2%	
	Total	49	100%	45	100%	

Fonte: Própria autora

Além desses resultados, também foi realizado a dicotomização (Tabela 5) da tabela de diabetes (transformar em duas linhas) a fim de se saber qual seria o resultado do Odds Ratio, para fins de proteção ou risco. Portanto, o resultado desta dicotomização foi: Quanto a presença de diabetes mellitus, 5 (10,2%) possuem o genótipo D/D, e 44 (89,8%) possuem os genótipos I/D ou I/I. Em relação à ausência da enfermidade, 4 (8,9%) Possuem o genótipo D/D e 41 (91,1%) possuem os genótipos I/D ou I/I. O resultado do Odds Ratio obtido foi de 0,8 e o Intervalo de Confiança foi de 0,215 a 3,419.

Tabela 5 – Dicotomização da frequência genotípica do polimorfismo NOS3 íntron 4 e manifestação de Diabetes Mellitus.

		Diabetes Mellitus				p	OR	IC
		sim		não				
		n	%	n	%			
NOS3 27-pb- VNTR	A/A	5	10,2%	4	8,9%	0,999	0,8	(0,215 - 3,419)
	A/B + B/B	44	89,8%	41	91,1%			
	Total	49	100,0%	45	100,0%			

Fonte: Própria autora.

Discussão

Em um estudo de meta análise de Chen, Wang, Liang, Yu e Yang (2016) sobre hipertensão pulmonar (HP), seis estudos foram pesquisados, incluindo 198 pessoas que possuem a doença e 250 controles. Uma grande sensibilidade ao risco de desenvolver HP foi encontrada em indivíduos que possuíam o genótipo 4a/a comparados aos portadores dos outros genótipos. Os homozigotos possuem um risco 2,5 vezes maior relacionado aos seus homólogos¹³.

Outra meta análise realizada, de Zeng, Zhu, Wong, Yang, Tang, Li, et al. (2016) sobre a pré-eclâmpsia, para o polimorfismo VNTR, O Odds Ratio obtido em três associações (bb vs aa, ab vs aa e bb vs ab), sugere que não há associação entre o risco de desenvolver a pré-eclâmpsia e a presença do polimorfismo VNTR 4b/a¹⁴.

Na pesquisa de Shankarishan, Borah, Ahmed e Mahanta (2014) que diz sobre os polimorfismos da oxido nítrico sintase endotelial e o risco de hipertensão em uma população indiana, utilizando a regressão logística univariada, o genótipo 4a/a foi associado ao aumento do risco de hipertensão. No modelo multivariado de regressão logística (quando se tem o ajuste para idade, sexo, ingestão extra de sal, tabagismo, mascar tabaco e hábito de consumo de álcool), o risco persistiu e o genótipo 4a/b também mostrou associação¹⁵. Ao contrário do presente estudo, que não houve associação entre o polimorfismo e a manifestação de hipertensão em idosas com síndrome metabólica.

Em relação a diabetes, o estudo de Bregar, Cilenšek, Mankoc, Reschner e Petrovi (2017) com Eslovenos que possuem diabetes mellitus tipo 2 e retinopatia diabética, o genótipo homozigoto 4a/a mostrou uma associação com a ocorrência de

retinopatia diabética (DR) em indivíduos que possuem diabetes mellitus tipo 2. As pessoas que possuíam genótipo 4a/a (modelo co-dominante) e 4a/b (modelo co-dominante), obtiveram um risco maior de DR quando comparados aos portadores do genótipo 4b/b (tipo selvagem)¹⁶. O presente estudo não mostrou associação entre o polimorfismo e a manifestação de diabetes mellitus em idosas com síndrome metabólica.

Conclusão

Conclui-se, portanto, que não há diferença estatística entre os grupos diabetes e hipertensão arterial sistêmica nas pacientes diagnosticadas com síndrome metabólica.

Pelo fato desse assunto ser ainda pouco falado, pois não se encontram artigos suficientes sobre, a utilidade da pesquisa se faz inevitável, pois em um futuro muito próximo, a maioria da população será mais velha, portanto, essa doença tende a aparecer cada vez mais.

Referências

- [1] Nora C, Morais T, Nora M, Coutinho J, do Carmo I, Monteiro MP. Gastrectomia vertical e bypass gástrico no tratamento da síndrome metabólica. Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. 2016 Janeiro; 11(1), p 23 – 29.
- [2] Fogal AS, Ribeiro AQ, Priori SE, Franceschini SCC. Prevalência de síndrome metabólica em idosos: uma revisão sistemática. Rasbran - Revista da Associação Brasileira de Nutrição. 1(6), p.29-35, 2014.
- [3] de Oliveira CC, da Costa ED, Roriz AKC, Ramos LB, Gomes Neto M. Preditores de Síndrome Metabólica em Idosos: Uma Revisão. International Journal of Cardiovascular Sciences. 2017; p. 343 – 353.

[4] Firmo JOA, de Melo Mambrini JV, Peixoto SV, de Loyola Filho AI, de Souza Junior PRB, de Andrade FB, et al. Controle da hipertensão arterial entre adultos mais velhos. *Revista de Saúde Pública*. 2018 Abril; p. 1 – 11.

[5] Malachias MVB. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 2 - Diagnóstico e Classificação. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 107(3), 2016 , p.7-13.

[6] Freitas JGA, de Oliveira Nielson SE, Porto CC. Adesão ao tratamento farmacológico em idosos hipertensos: uma revisão integrativa da literatura. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*. 2015 Janeiro; p. 75 – 84.

[7] de Oliveira MSN, Almeida GBS, de Nazaré Pereira Chagas D, Salazar PR, Ferreira LV. Autocuidado de idosos diagnosticados com hipertensão arterial e/ou diabetes mellitus. *Revista de Enfermagem da Universidade Federal de Santa Maria*. 2017 Julho; p. 490 – 503.

[8] Costa SS, Rosales RA, de Ávila JA, Pelzer MT, Lange C. Adesão de idosos com diabetes mellitus à terapêutica: revisão integrativa. *Cogitare Enfermagem*. 2017 Junho; 22(3), p. 1 – 10.

[9] Matsa LS, Rangaraju A, Vengaldas V, Latifi M, Jahromi HM, Ananthapur V, et al. Haplotypes of *NOS3* Gene Polymorphisms in Dilated Cardiomyopathy. *Plos One*. 2013 Julho; 8(7) p. 1 – 5.

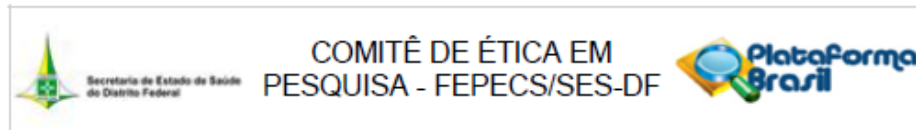
[10] Vecoli C. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms in Cardiovascular Disease. *Vitamins & Hormones*. 2014; p. 387 – 406.

Rai H, Parveen F, Kumar S, Kapoor A, Sinha N. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Coronary Artery Disease: An Updated Meta-Analysis and Systematic Review. *Plos One*. 2014 Novembro; 9(11):1 – 19.

[11] Rai H, Parveen F, Kumar S, Kapoor A, Sinha N. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Coronary Artery Disease: An Updated Meta-Analysis and Systematic Review. *Plos One*. 2014 Novembro; 9(11):1 – 19.

- [12] Özçelik AT, Demirdögen BC, Şeref Demirkaya, Adalı O. Importance of *NOS3* Genetic Polymorphisms in the Risk of Development of Ischemic Stroke in the Turkish Population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2014 Dezembro; p. 797 – 803.
- [13] Chen Q, Wang H, Xiao D, Liang T, Yu J, Yang J. Association between eNOS 4b/a polymorphism and susceptibility of pulmonary hypertension: a meta-analysis of 6 studies. *International Journal Of Clinical And Experimental Medicine*. 2016 Agosto; p. 1 – 8.
- [14] Zeng F, Zhu S, Wong MC, Yang Z, Tang J, Li K, et al. Associations between nitric oxide synthase 3 gene polymorphisms and preeclampsia risk: a meta-analysis. *Scientific Reports*. 2016 Março; 6(1):1 – 10.
- [15] Shankarishan P, Borah PK, Ahmed G, Mahanta J. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and the Risk of Hypertension in an Indian Population. *BioMed Research International*. 2014 Agosto; p. 1 – 12
- [16] Bregar D, Cilenšek I, Mankoc S, Reschner A, Petrovič D, Petrovič MG. The joint effect of the endothelin receptor B gene (*EDNRB*) polymorphism rs10507875 and nitric oxide synthase 3 gene (*NOS3*) polymorphism rs869109213 in Slovenian patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences*. 2017 Agosto;p. 80 – 86.

ANEXO I – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Abordagem das Condições Crônicas Não Transmissíveis na Atenção Primária à Saúde

Pesquisador: Marina Morato Stival

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

Versão: 2

CAAE: 50387215.5.0000.5553

Instituição Proponente: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal / FEPECS/ SES/ DF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.355.211

Apresentação do Projeto:

Conforme o Parecer 1.314.141

Objetivo da Pesquisa:

Conforme o Parecer 1.314.141

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme o Parecer 1.314.141

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme o Parecer 1.314.141

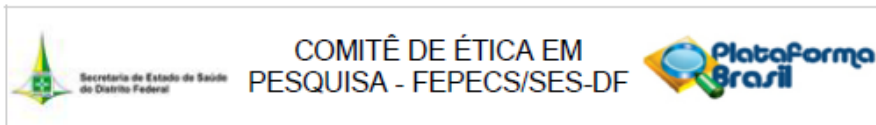
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Conforme o Parecer 1.314.141

Recomendações:

Recomenda-se em Pesquisas futuras, pautar-se nas recomendações do Conselho Nacional de Saúde, em Resolução de número 488 de 12/12/2012. O instrumento de coleta de dados foi anexado ao Projeto, na forma do recomendado pelo CEP/FEPECS. O colegiado havia solicitado justificativas quanto ao projeto de pesquisa não necessitar a análise da CONEP. A pesquisadora

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3325-4955 **Fax:** (33)3325-4955 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.355.211

apresentou longa e satisfatória justificativas, em anexo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos sujeitos da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo, e somente poderá se iniciar após a aprovação do CEP. O pesquisador deverá encaminhar relatório final, após a pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_598464.pdf	22/11/2015 17:42:01		Aceito
Outros	Instrumentos.pdf	22/11/2015 17:41:05	Marina Morato Stival	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Resposta_CEP.pdf	22/11/2015 17:39:21	Marina Morato Stival	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	17/10/2015 10:02:42	Marina Morato Stival	Aceito
Outros	termosconcordancia.pdf	07/10/2015 20:48:35	Marina Morato Stival	Aceito
Outros	CurriculoMarinaMoratostival.pdf	07/10/2015 20:47:29	Marina Morato Stival	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOAbordagemDCNT.pdf	07/10/2015 20:41:25	Marina Morato Stival	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	07/10/2015 20:39:19	Marina Morato Stival	Aceito

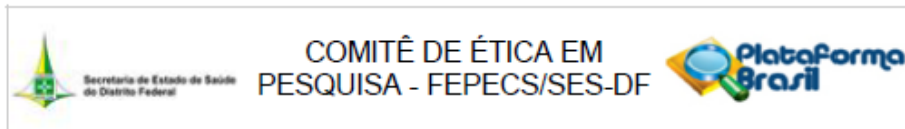
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-904
 UF: DF Município: BRASILIA
 Telefone: (61)3325-4955 Fax: (33)3325-4955 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.355.211

BRASILIA, 08 de Dezembro de 2015

Assinado por:
Helio Bergo
(Coordenador)

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3325-4955 **Fax:** (33)3325-4955 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com

ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Abordagem das Condições Crônicas Não Transmissíveis na Atenção Primária à Saúde

O (a) Senhor (a) está sendo convidada a participar do projeto: Abordagem das Condições crônicas não transmissíveis na atenção primária à saúde. O nosso objetivo é Investigar o processo saúde-doença de indivíduos que vivem com hipertensão arterial e diabetes *mellitus* em Regional Administrativa do Distrito Federal.

O (a) senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A sua participação será através de uma avaliação realizada na Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília (FCE-UnB) para: medida de sua composição corporal pelo DXA, uma balança, e coleta de 15ml de sangue do seu braço para realização de exames que permitem conhecer um pouco melhor como “funciona” estas doenças, do ponto de vista genético. Serão utilizados equipamentos novos, estéreis e descartáveis. Poderá haver pequeno incômodo de dor no momento da introdução da agulha para a retirada do sangue e, eventualmente, a formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local.

Além disso, você participará de uma entrevista e responderá perguntas de um questionário com um tempo estimado de 1 hora. Será respeitado o tempo de cada um para respondê-lo. Depois será agendada uma visita em sua casa para que um pesquisador vá até sua casa e faça uma entrevista e observe sua casa. Esta visita poderá durar até 1 hora. Informamos que a Senhor (a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o/a senhor (a).

A sua participação neste estudo poderá proporcionar, no âmbito pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido. Os resultados estarão sempre disponíveis a você. Caso seja de seu desejo, os resultados serão discutidos com você pela equipe deste trabalho. Sua participação poderá ainda ajudar no

maior conhecimento sobre **Condições Crônicas Não Transmissíveis**, principalmente em relação às causas genéticas da doença.

Sua participação é voluntária e não alterará o seguimento e tratamento da doença que você já está fazendo. Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis. Caso você decida não participar, isto não afetará o seguimento e tratamento normal nem o seu relacionamento com seu médico. Conforme previsto pelas leis brasileiras você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade da Ceilândia da Universidade de Brasília, no banco de amostras "**Condições Crônicas Não Transmissíveis**", sob a responsabilidade dos pesquisadores. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

Os resultados da pesquisa serão divulgados em eventos científicos e na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Se o Senhor (a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dar(a). Marina Morato Stival, na instituição Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília telefone: 8178-3397 ou 3107-8418, no horário: 08:00 às 18:00.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3325-4955.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Nome / assinatura:

Pesquisador

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO III – Termo de Guarda de Material Biológico

Termo de guarda de material biológico de todos os participantes da pesquisa.

Termo de Guarda de Material Biológico

Este documento é chamado é chamado Termo de Guarda de Material Biológico. Ele contém explicações sobre a guarda de seu material biológico (sangue). Você poderá autorizar ou não a guarda de seu material biológico. A decisão é sua.

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia, no banco de amostras “Gpesen”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva e será utilizado somente para verificar os polimorfismos genéticos do presente estudo.

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados.

Se for de seu interesse, você terá acesso aos resultados dos seus exames.

O sangue será utilizado somente em pesquisas que tenham como objetivos verificar a frequência de determinadas sequências no DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) em indivíduos saudáveis.

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

Todas as informações estarão sempre à sua disposição, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores.

A qualquer momento você terá acesso a seus dados genéticos, assim como terá o direito de retirar seu material biológico do banco onde se encontra armazenado.

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

Eu, _____ RG _____, após receber uma explicação completa dos procedimentos envolvidos na guarda de material biológico, venho através deste termo consentir a guarda de meu material biológico (sangue) decorrente da presente pesquisa.

Assinatura do participante

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO IV – Ficha de Identificação**IDENTIFICAÇÃO****1. Dados Pessoais**

Nome: _____

Sexo: F() M()

Telefone: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____anos

Estado Civil: _____

Endereço: _____

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Cor: () Branca () Parda () Negra () Outros

Nível de escolaridade: _____

Ocupação: _____

Possui familiares: () Sim () Não

Filhos: _____

Renda mensal: _____ Renda familiar: _____

Reside em casa: () própria () alugada () cedida

Número de moradores na casa: _____

Religião: _____

Diagnóstico: () HAS Tempo de diagnóstico: _____ () DM Tempo de diagnóstico: _____

Tipo de DM: () Insulino-dependente () Não Insulino-Dependente

Outras doenças:

Paciente do grupo controle: () Sim () Não

2- Hábitos

Tabagismo () Não () Sim. Há quantos anos? _____

Etilista () Não () Sim. Há quantos anos? _____

Realiza exercícios físicos? () Não () Sim. Com que frequência? _____

Tipo de exercício: _____

Sono: () Normal () Insônia () Sonolência () Dificuldade para adormecer

Volume de líquido ingerido diariamente:

Água: _____ mL Refrigerantes: _____ mL Sucos: _____ mL Outros: _____ mL

Usa adoçantes? () Não () Sim Com que frequência? _____

Lazer: _____

3- Alimentação

Nº de refeições por dia: _____

Tem restrição alimentar? () S () N Se sim, a qual alimento? _____

Faz dieta alimentar: () Sim () Não

4- Sexualidade

() Ativa () Inativa () Uso de preservativo () mais de um parceiro

5. Antecedentes familiares

() Diabetes () Hipertensão arterial () Cardiopatias () Neoplasias

Outros: _____

6. Antecedentes ginecológicos

Menarca: _____ Menopausa: _____

ANEXO V – NORMAS DO PERIÓDICO

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade contínua, é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts, além de ser integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado em inglês e português, com resumo em português e espanhol.

ANÁLISE DOS TRABALHOS

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

ESTRUTURA DO TEXTO

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos

obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O *Abstract* (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir.

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Artigos de atualização

São trabalhos descritivos e interpretativos com base na literatura recente sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Devem conter até 3 mil palavras. A estrutura do texto fica a critério do autor, mas deve haver um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês, além de referências bibliográficas.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase "para publicação".

REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- **Artigos de periódicos (um só autor):** Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- **Artigos de periódicos (até seis autores):** Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- **Artigos de periódicos (mais de seis autores):** Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- **Artigo de periódico on-line:** Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.
- **Livros no todo (dois autores):** Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the

complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

• **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor:** Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

• **Parte de livro em meio eletrônico:** São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

• **Evento em meio eletrônico:** Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

• **Tese ou dissertação:** Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

• **Citações no texto:** Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

TABELAS E FIGURAS

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png.

ABREVIÇÕES E NOMES DE MEDICAMENTOS

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.