



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

MARCELA DOS SANTOS TEIXEIRA

**POLIMORFISMO DO GENE *BAX* EM IDOSOS COM SÍNDROME METABÓLICA**

BRASÍLIA, 2019



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

MARCELA DOS SANTOS TEIXEIRA

**POLIMORFISMO DO GENE *BAX* 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<sup>a</sup>. Msc. Lígia Canongia de Abreu Cardoso Duarte**

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

BRASÍLIA, 2019

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

TT266p      Teixeira, Marcela dos Santos  
                 Polimorfismo do gene BAX em idosos com Síndrome Metabólica  
                 / Marcela dos Santos Teixeira; orientador Ligia Canongia  
                 Duarte; co-orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -  
                 Brasília, 2019.  
                 60 p.

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

                 1. Gene BAX. 2. Síndrome Metabólica. 3. Hipertensão. 4.  
                 Diabetes. 5. Polimorfismo. I. Duarte, Ligia Canongia,  
                 orient. II. Silva, Izabel Cristina Rodrigues da, co-orient.  
                 III. Título.

MARCELA DOS SANTOS TEIXEIRA

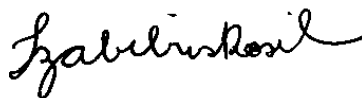
**POLIMORFISMO DO GENE *BAX* EM IDOSOS COM SÍNDROME METABÓLICA**

**BANCA EXAMINADORA**



---

Orientadora: Prof<sup>a</sup> MSc. Ligia Canongia de Abreu Cardoso Duarte  
(Centro Universitário Planalto do Distrito Federal – UNIPLAN)



---

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva  
(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

---

Esp. Aline Ribeiro Barros  
(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

---

Esp. Caroline Ferreira Fratelli  
(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

BRASÍLIA, 2019

*“Estou entre aqueles que pensam que a ciência tem  
uma grande beleza.”*

*Marie Curie*

## **DEDICATÓRIA**

Este trabalho é dedicado à minha família e, em especial, aos meus pais, por terem sido meu suporte e apoio durante toda essa jornada. À minha orientadora e co-orientadora, por terem dedicado tempo e cuidado para que essa etapa fosse concluída.

## **AGRADECIMENTOS**

Para chegar até a etapa final do curso, que é a realização desse trabalho, foi necessário que houvesse uma dedicação muito grande durante esses 5 anos de graduação. Pessoas extremamente importantes em minha vida tiveram envolvimento direto e indireto com todo o processo, desde o apoio emocional até o apoio acadêmico.

Acima de tudo, agradeço a Deus, por ter sido meu porto seguro nesta trajetória e por ter me dado força, luz e saúde para que isto fosse realizado.

Aos meus pais, Elizete Conceição dos Santos e Marcelo Carlos Teixeira, agradeço imensamente o apoio durante toda a minha vida, por terem sido minha base e sustento emocional, educacional e afetivo. Obrigada por acreditarem sempre em mim, por respeitarem minhas decisões e por me guiarem por este longo caminho. Sem vocês eu não estaria em hipótese alguma onde estou, pois devo muito aos dois e espero poder retribuir tudo o que me foi assistido. Vocês são meu espelho e espero poder me tornar uma pessoa assim como são vocês. Obrigada à toda minha família!

Aos meus amigos de graduação, os meus sinceros agradecimentos, à todos aqueles que de alguma forma contribuíram em algum momento nesses 5 anos, pois aqui pude perceber o quanto o curso de Farmácia é unido e o quão promissor é o futuro dos farmacêuticos que estarão saindo. Especialmente, agradeço ao meu grupo de pesquisa e à minha turma XIV de Farmácia – UnB/FCE, tanto aos que me acompanharam até o fim da graduação quanto aos que, por caminhos que a vida toma, não puderam seguir ao meu lado. Muitas amizades levarei para a vida com muito amor.

À minha família materna e paterna, por sempre acreditarem que eu tinha potencial, em especial aos meus primos Gabriela Conceição dos Santos e Lucas da Silva Teixeira, que, mesmo com vidas corridas e distintas (mas ao mesmo tempo parecidas), conseguiram me apoiar e me inspirar. O mesmo vale para minhas melhores amigas, Geovana Silva Remião e Giovanna Jesus da Rocha, que estiveram presentes em todos os momentos, bons e ruins, e que nunca deixaram enfraquecer nosso círculo de apoio.

Gostaria também de agradecer ao meu namorado Marcello de Oliveira Galvão, que mesmo em meio a dificuldades fora do nosso alcance, foi meu ponto de equilíbrio nos meus momentos mais difíceis, de ansiedade, incerteza e frustração, e nos meus momentos mais felizes, de aprovações, conquistas e alegrias. Você fez parte de tudo isso, e com certeza esses anos foram muito mais suaves e produtivos por sua confiança em mim!

Por fim, gostaria de agradecer e homenagear duas pessoas essenciais nessa etapa final de conclusão do curso: minha orientadora Prof. Msc. Ligia Canongia de Abreu Cardoso Duarte e minha co-orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva. Obrigada pelos conselhos, pelo trabalho em conjunto, pela paciência, dedicação e por todo o aprendizado passado, vocês possuem o dom da docência e definitivamente são grande parte desse trabalho. Fico lisonjeada por ter sido orientada por mulheres tão inspiradoras, as quais irei me espelhar futuramente, tanto na minha vida acadêmica quanto profissional. Dentro da Universidade de Brasília pudemos traçar esse caminho e construir essa parceria acadêmica, e sou grata de ter tido a oportunidade de ter sido parte dessa história de uma das melhores universidades do país, onde, mesmo com muitas lutas, conseguiu construir uma parte da riqueza que o curso de Farmácia representa.



## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
REVISÃO DE LITERATURA DO TEMA ESTUDADO.....	17
I. Síndrome Metabólica .....	17
II. Epidemiologia .....	18
III. Prevalência em idosos .....	18
IV. Resistência Insulínica (RI) .....	19
V. Distúrbios lipídicos e complicações cardiovasculares.....	20
VI. Apoptose.....	21
VII. Gene <i>BCL2</i> .....	22
VIII. Gene <i>BAX</i> .....	22
JUSTIFICATIVA.....	24
OBJETIVOS .....	25
I. Objetivo Geral.....	25
II. Objetivo Específico.....	25
REFERÊNCIAS .....	26
CAPÍTULO II.....	29
Resumo .....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Objetivo .....	35
Materiais e Métodos .....	35
Critérios de inclusão utilizados para a escolha das pacientes.....	35
Análise laboratorial .....	35
Processamento de dados .....	37
Resultados.....	37
Discussão .....	40
Conclusão.....	41
Referências .....	41
ANEXO I .....	43
Aprovação no Comitê de Ética .....	43

ANEXO II .....	46
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE.....	46
ANEXO III .....	48
Termo de Guarda de Material Biológico .....	48
ANEXO IV .....	50
Ficha de identificação .....	50
ANEXO V .....	52
Normas da revista científica de escolha para publicação .....	52

## RESUMO

Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes e distúrbios lipídicos são os componentes principais da doença conhecida como Síndrome Metabólica (SM). Sua definição ainda é levemente difusa, tendo variações de acordo com a organização que a define e o ponto de partida utilizado. Sua prevalência é maior em idosos, por conta das alterações metabólicas sofridas com o passar dos anos, e está intimamente ligada com o modo de vida que determinada população estudada leva, de acordo com seus hábitos alimentares, frequência da prática de exercícios físicos e cuidados com a saúde. A influência genética ainda é pesquisada, mas estudos incluem certos tipos de genes que podem ter relação com um ou mais de seus componentes. Um exemplo estudado é o gene *BAX*, um gene pró-apoptótico pertencente à família BCL-2, que já foi anteriormente citado em estudos relacionados à alterações cardíacas e vasculares, além de apoptose de organelas responsáveis por funções metabólicas no organismo. O polimorfismo *BAX* -248 G/A (rs4645878) é um SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) relacionado ao gene *BAX* que tem como característica a presença dos nucleotídeos guanina no alelo selvagem e adenina no alelo variante (ocorre a troca da base G pela A), e encontra-se na região 5' não traduzida, na região promotora -248 desse gene. Tendo como objetivo a avaliação do nível de correlação entre o polimorfismo *BAX* -248 G/A (rs4645878) e a SM, foi feito este estudo de caso-controle com um grupo de 94 pacientes do sexo feminino, com idade igual ou maior a 60 anos, participantes do programa de Estratégia de Saúde da Família do Distrito Federal. Observou-se que se tratando da variável hipertensão dentro da Síndrome Metabólica, 35,2% das pacientes do grupo caso (n = 25) manifestaram a presença do alelo mutante. Quanto à variável diabetes relacionada à SM, esse resultado foi de 38,8% das pacientes (n = 19). Essa diferença estatística apresentada sugere uma possível influência do gene *BAX* em alterações metabólicas presentes na doença, provavelmente tendo relação com seu mecanismo apoptótico. Acredita-se que seja necessário um aprofundamento no estudo da doença e de sua relação com o gene, além de melhorias nas políticas públicas de saúde, a fim de assegurar a prevenção, o diagnóstico e o tratamento adequado.

**Palavras-Chave:** Polimorfismo. *BAX*. Síndrome Metabólica. Hipertensão. Diabetes.

## ABSTRACT

Hypertension, diabetes and lipid disorders are the main components of the condition known as Metabolic Syndrome (MS). Its definition is still slightly diffuse, with variations according to the organization that defines it and the starting point used. Its prevalence is higher in the elderly, due to the metabolic changes suffered over the years, and is closely related to the lifestyle that a specific studied population has, according to their eating habits, frequency of physical exercise and health care. Genetic influence is still researched, but studies include certain types of genes that may relate to one or more of its components. A studied example is the *BAX* gene, a pro-apoptotic gene belonging to the BCL-2 family, which has been previously mentioned in studies related to cardiac and vascular changes, as well as apoptosis of organelles responsible for metabolic functions in the body. The *BAX* -248 G / A polymorphism (rs4645878) is a *BAX* gene-related single nucleotide polymorphism (SNP) that is characterized by the presence of guanine nucleotides in the wild allele and adenine in the variant allele (exchange of base G for A). , and is found in the 5' untranslated region, in the promoter region -248 of that gene. Aiming at evaluating the correlation level between the *BAX* -248 G / A (rs4645878) polymorphism and MS, this case-control study was conducted with a group of 94 female patients aged 60 and over, participants in the Family Health Strategy program from Distrito Federal. Regarding the hypertension variable within the Metabolic Syndrome, 35.2% of the patients in the case group (n = 25) manifested the presence of the mutant allele. For the diabetes variable related to MS, this result was 38.8% of the patients (n = 19). This statistical difference suggests a possible influence of the *BAX* gene on metabolic alterations present in the disease, probably related to its apoptotic mechanism. It is believed that further study of the disease and its relationship with the gene is necessary, as well as improvements in public health policies to ensure prevention, diagnosis and proper treatment.

**Keywords:** *Polymorphism. BAX. Metabolic Syndrome. Hypertension. Diabetes*

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Oligonucleotídeos utilizados no processo de PCR ----- 36
- Tabela 2.** Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Hipertensão Arterial. ----- 38
- Tabela 3.** Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Diabetes. ----- 38
- Tabela 4.** Distribuição dicotomizada da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Hipertensão Arterial. ----- 39
- Tabela 5.** Distribuição dicotomizada da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Diabetes. ----- 39

## LISTA DE SIGLAS

*8-OHdG – 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*

*AIF - Apoptosis Inducing Factor*

*BAK – Bcl-2 relative bak*

*BAX - BCL-2 associated X protein*

*BCL2 - B cell CLL/lymphoma 2*

*Bcl-w – Bcl-2 like 2*

*Bcl-xL – B-cell lymphoma-extra large*

CC – Circunferência da cintura

DF – Distrito Federal

DM – Diabetes *Mellitus*

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ESF – Estratégia de Saúde da Família

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HDL – *High Density Lipoproteins*

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

IC – Intervalo de Confiança

I-DBSM – Primeira Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica

IDF – *International Diabetes Federation*

IMC – Índice de Massa Corporal

*LDL - Low Density Lipoproteins*

LLC – Leucemia Linfocítica Crônica

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

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – *Odds Ratio*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

RFLP – Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição

RI – Resistência Insulínica

RNA – Ácido ribonucleico

SM – Síndrome Metabólica

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*

VLDL – *Very Low Density Lipoproteins*

**CAPÍTULO I**  
**Revisão bibliográfica**



## INTRODUÇÃO

O advento das novas tecnologias e da industrialização trouxe consigo uma mudança no estilo de vida da população. Essa mudança incluiu alimentação, exercícios físicos e outros fatores relevantes no dia-a-dia das pessoas. Com isso, novos problemas de saúde foram surgindo, entre eles, a Síndrome Metabólica (SM) (AZAMBUJA et al., 2015).

A Síndrome Metabólica (SM) é uma doença crônica, estabelecida por meio de características genéticas e ambientais, de caráter plurimetabólico, ou seja, apresentada como um conjunto de fatores de riscos cardiovasculares, entre estes dislipidemia aterogênica, anormal tolerância a glicose, hipertensão e obesidade visceral, sendo que estas condições estão intimamente associadas com resistência insulínica.

Várias organizações propuseram definições da SM com diferentes componentes e pontos de corte para adultos, o que dificulta a verificação da prevalência nas populações. Dependendo do critério utilizado e das características da população de adultos estudada, as taxas variam de 12,4 a 28,5%, em homens, e de 10,7 a 40,5%, em mulheres (AZAMBUJA et al., 2015). Sua prevalência maior na população feminina pode estar relacionada com as mudanças hormonais presentes após a menopausa, que provocam alterações metabólicas significativas (aumento da gordura abdominal, aumento da densidade de LDL, por exemplo) (RAMIRES et al., 2013).

A *BCL-2 associated protein X (BAX)*, codificada pelo gene localizado na região cromossômica 19q13.3-q13.4, representa o protótipo das proteínas pró-apoptóticas (FARIA et al., 2006). Sendo um dos mecanismos de morte celular, a apoptose, também conhecida como morte celular programada, pode ser definida como o processo de morte adequada de qualquer célula sob certas condições ou condições necessárias. É um mecanismo de defesa contra células danificadas, estressadas ou estimuladas por quaisquer agentes com a finalidade de evitar o acúmulo de células não funcionais nos tecidos (KIRAZ et al., 2016).

A apoptose promove a ativação de vias bioquímicas dentro das células, denominada via das caspases, proteínas responsáveis pela clivagem de diversos substratos celulares, o que leva as células à morte. Membros antiapoptóticos da família Bcl-2 (*B cell CLL/lymphoma 2*), pertencentes à via intrínseca de ativação das caspases, como Bcl-xL (*B-cell lymphoma-extra large*) e Bcl-w (*Bcl-2-like 2*) atuam predominantemente prevenindo que os membros pró-apoptóticos, como *BAX* (*Bcl-2-associated X protein*) e *BAK* (*Bcl-2 relative bak*) ocasionem a morte celular (LUCHS, PANTALEÃO, 2010).

Polimorfismos são alterações distintas das mutações pois, ao invés de estarem associadas com patologias, são variações genéticas naturais na população e podem estar ligadas à susceptibilidade a doenças. Os polimorfismos mais comuns no genoma humano são os polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) (DOMINGUES, 2008). O polimorfismo *BAX* -248 G/A (rs4645878) é um SNP relacionado ao gene *BAX* que caracteriza-se pela presença dos nucleotídeos guanina no alelo selvagem e adenina no alelo variante, e encontra-se na região 5' não traduzida, no promotor desse gene (CUNHA, 2018).

O gene *BAX*, por se tratar de um gene pró-apoptótico, já foi anteriormente citado em estudos relacionados à alterações cardíacas e vasculares, além de apoptose de organelas responsáveis por funções metabólicas no organismo. Por isso, é necessário o estudo da influência desse gene na Síndrome Metabólica, uma doença que possui diversas complicações correlacionadas e que se mostra bastante relevante do ponto de vista da saúde da população, atualmente e futuramente.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Síndrome Metabólica

A Síndrome Metabólica (SM), segundo a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM), é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovascular geralmente relacionados à deposição central de gordura e à resistência à insulina. Sua definição é ainda bastante discutida, tendo divergências nas definições propostas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III). A OMS utiliza como ponto de partida distúrbios relacionados à glicose, como resistência à insulina ou alterações no metabolismo da glicose, subestimando assim muitos casos por não considerar outros fatores de risco. A justificativa é que estes têm como consequência o aumento da glicemia e a alteração do metabolismo lipídico, que provoca alterações hormonais e aumento de peso, favorecendo o aparecimento de doenças cardiovasculares (AZAMBUJA, 2015).

Do contrário, a definição proposta pelo NCEP-ATP III, desenvolvida para uso clínico, facilita o enquadramento de pacientes nesta síndrome (mais sensível). Esta definição é a recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Posteriormente, o *International Diabetes Federation* (IDF) lançou uma nova definição da SM em que a obesidade central, demarcada pelo valor do perímetro abdominal, tornou-se imprescindível para o diagnóstico (FOGAL et al., 2014). Dessa forma, juntamente com os critérios diagnósticos da OMS, os do IDF são mais específicos.

Independentemente do critério utilizado, o que se tem em concordância é o aumento da prevalência da SM na população idosa (principalmente quando se utiliza a definição do IDF). Isso se deve principalmente ao aumento do acometimento de eventos cardiovasculares, alterações metabólicas e distúrbios relacionados à glicose nesta população (FOGAL et al., 2014).

## **Epidemiologia**

Os estudos em torno da epidemiologia da SM variam bastante por conta de variáveis como etnia, raça, sexo, fatores ambientais, entre outros. A SM apresenta uma prevalência mundial em bastante ascensão, o que provavelmente está relacionada com o aumento da obesidade, sedentarismo, modificações nos hábitos alimentares e do importante processo de envelhecimento (SAAD et al., 2014). O que se tem em consenso é que ela acomete principalmente os grupos de risco, como pacientes com intolerância à glicose, diabéticos e crianças na população geral (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015). Sua importância do ponto de vista epidemiológico deve-se principalmente ao aumento da mortalidade cardiovascular, estimada em 2,5 vezes, de acordo com a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (BRASIL, 2005).

De acordo com uma revisão sistemática feita por Fogal e colaboradores (2014), na maioria dos estudos que apresentaram os dados estratificados por sexo os resultados revelaram que as mulheres apresentaram prevalência da síndrome metabólica superior aos homens. Isso é decorrente provavelmente das alterações metabólicas e hormonais sofridas, principalmente no período da menopausa. Com relação à idade, a prevalência aumentava concomitantemente com o tempo de vida.

### **Prevalência em idosos**

Ainda com a escassez de dados em concordância em torno da SM (por conta da divergência de definições), diversos estudos têm demonstrado que a prevalência da SM aumenta com a idade, tornando o seu diagnóstico necessário devido ao aumento de 2,5 vezes do risco de doenças cardiovasculares e de cinco vezes para o desenvolvimento de diabetes (SAAD et al., 2014). Como é conhecido, a SM ainda não é uma doença com critérios diagnósticos unânimes de acordo com as organizações citadas acima. Mesmo quando se utiliza o mesmo critério, a prevalência da síndrome metabólica apresenta ampla variação entre populações idosas (entre 25% e 60%), o que pode ser explicada por diferenças na composição das populações em relação a sexo, faixa etária, etnia, fatores ambientais, entre outros (NEVES et al., 2019). A

literatura demonstra a dificuldade em se ter um critério diagnóstico que seja preciso, sensível e específico, e que possa ser útil para avaliar as populações em geral ultrapassando as limitações das especificidades regionais (SAAD et al., 2014).

Outros dados importantes a serem ressaltados são a existência de um maior risco para déficits cognitivos entre os portadores da síndrome, em especial quando a glicemia é um dos componentes da SM, além da ocorrência de um risco duas vezes maior para a depressão entre mulheres com SM, conforme o critério do NCEP-ATP III revisado (RIGO et al., 2009).

### **Resistência insulínica (RI)**

Apesar de a glicose elevada ser um componente mais dificilmente encontrado em pacientes com SM, a resistência à insulina continua a explicar grande parte, se não toda a síndrome metabólica. Ainda não surgiram outros mecanismos que expliquem os componentes individuais ou seus agrupamentos. A resistência à insulina (RI) apresenta extrema importância na patogênese da SM, fenômeno destacado sobretudo nos obesos, que consiste na presença de resistência à ação da insulina no metabolismo dos hidratos de carbono e lipídeos (COMÓS; VALLES, 2011).

A RI provoca uma resposta biológica insuficiente para utilização de glicose pelos tecidos periféricos, principalmente músculo esquelético, fígado e tecido adiposo em resposta à insulina. Inicialmente, a deficiência na ação da insulina é compensada por altas quantidades do hormônio liberado no sangue pelas células  $\beta$  do pâncreas, o que provoca uma hiperinsulinemia que sustenta os níveis de glicose no sangue dentro dos limites normais, até que isso vira uma disfunção das células  $\beta$  e surgimento de hiperglicemia e diabetes mellitus tipo 2 (DM-2). A relação entre DM-2 e SM tem sido amplamente documentada (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015).

A resistência à insulina é um fator de risco encontrado com frequência no quadro de SM, a qual encontra-se associada, principalmente, à obesidade acumulada na região abdominal (AZAMBUJA, 2015).

## **Distúrbios lipídicos e complicações cardiovasculares**

A resistência insulínica também é acompanhada por dislipidemia aterogênica. A crescente lipólise do tecido adiposo visceral intensifica o fluxo de ácidos graxos para o fígado e a subsequente síntese de triglicerídeos e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que provoca um aumento nos níveis sanguíneos de triglicerídeos, processo favorecido devido à deficiente atividade da lipase lipoprotéica, uma enzima dependente de insulina que degrada VLDL. A hipertrigliceridemia provoca uma diminuição nos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) e o surgimento de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015).

A facilidade de aplicação e o baixo custo tornam o índice de massa corporal (IMC) o indicador de estado nutricional mais utilizado para avaliação de adultos. Ele apresenta-se como um guia do nível de adiposidade geral, pois não possui capacidade de distinguir a distribuição da gordura corporal. Diante dessa inabilidade do IMC obter correlação forte com a gordura visceral, o uso da medida da CC (ou perímetro da cintura) tem sido proposto por diversas sociedades como o NCEP-ATP III e IDF (AZAMBUJA, 2015). Outro bom indicador de obesidade abdominal é a circunferência da cintura, o que foi confirmado em inúmeros estudos, embora para outros pesquisadores seja melhor o índice cintura-quadril (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015).

Outra complicação decorrente das alterações lipídicas é a secreção citocinas pró-inflamatórias pelas células adiposas, como o fator de necrose tumoral alfa, que causam doenças crônicas devido a danos inflamatórios (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015).

As complicações cardiovasculares na SM são consequências dos outros componentes presentes. É fato que a obesidade central e o aumento de glicose se associam com o aumento de risco de morbimortalidade cardiovascular (RIGO et al., 2009). Porém, ainda há uma certa dúvida para saber se o diagnóstico de SM implica um maior risco cardiovascular que seus componentes isolados. Na literatura relacionada à SM, o componente da doença que apresentou maior prevalência foi a pressão arterial elevada. O aumento da pressão arterial em pacientes com SM é principalmente devido à resistência insulínica, que causa uma ativação do sistema

nervoso simpático, do sistema renina-angiotensina-aldosterona e dos níveis de ácido úrico (RIVAS VAZQUEZ et al., 2015).

## **Apoptose**

A apoptose, ou morte celular programada, é um processo fisiológico essencial para a eliminação de células em excesso ou que não são mais necessárias ao organismo, atuando na homeostase dos tecidos. Por outro lado, esse fenômeno também está envolvido em condições patológicas. Os aspectos que dão características distintas à morte celular programada são divididos em morfológicos e moleculares. Entre os aspectos morfológicos, observa-se: a redução do volume celular, condensação da cromatina, clivagem de DNA e fragmentação da célula em corpos apoptóticos, os quais são reconhecidos e fagocitados rapidamente por fagócitos sem ocasionar resposta imunológica. Entre os aspectos moleculares, estão: a liberação de citocromo c da mitocôndria, ativação de caspases, as quais clivam diversos substratos celulares, levando as células à morte celular (LUCHS, PANTALEÃO, 2010).

Na mitocôndria, a liberação de citocromo c é regulada pelos membros da família Bcl-2 que possui proteínas pró e antiapoptóticas. Em resposta ao estresse, membros pró-apoptóticos dessa família são translocados do citoplasma para a mitocôndria, onde promovem a liberação do citocromo c celular (LUCHS, PANTALEÃO, 2010).

Os marcadores séricos mais confiáveis de apoptose e dano oxidativo ao DNA são p53 e 8-OHdG, respectivamente. Evidências de estudos relacionados à infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca em humanos, modelos in vitro e animais, mostram que a apoptose de miócitos cardíacos pode ser induzida por uma variedade de estímulos e em vários estados dessas doenças. Enquanto ocorre lesão no infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral na área infartada, células adjacentes aos tecidos danificados sofrem apoptose. Deste modo, o dano celular induz a expressão de p53 (uma proteína supressora tumoral) que, por sua vez, regula a transcrição de vários genes apoptóticos. A evidência de apoptose é demonstrada pela transcrição estimulada por p53 do gene proapoptótico *BAX* e repressão do gene *BCL2* antiapoptótico (NAJAR et al., 2010). Esses genes são os reguladores de apoptose melhor caracterizados atualmente (FERNANDES et al., 2015).

## **Gene *BCL2***

A família do gene *BCL2* é uma rede complexa que regula a apoptose, na qual alguns dos candidatos podem suprimir a apoptose, enquanto os outros podem induzi-la (NAJAR et al., 2010). O gene *BCL2* está localizado no cromossomo 18q21.3, e um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) do gene promotor, o genótipo -938C> A (rs2279115), é conhecido por estar correlacionado com alta expressão da proteína Bcl-2 e está associado ao desenvolvimento de doenças como leucemia linfocítica crônica (LLC), carcinoma de células escamosas orofaríngeas, câncer de próstata e câncer epitelial de ovário. Esse polimorfismo funcional encontra-se na região promotora inibitória P2. Os alelos C e A ligam diferentes fatores de transcrição e afetam a atividade promotora. O alelo C mostra ligação alterada de fatores de transcrição, aumento da atividade do promotor inibitório P2 e, portanto, diminuição da expressão de Bcl-2 (FERNANDES et al., 2015).

A proteína Bcl-2 é originada da translocação entre os cromossomos 14 e 18 e foi descoberta em linfoma folicular humano (LUCAS, PANTALEÃO, 2010). Em mamíferos, a família Bcl-2 tem ao menos 20 parentes, tendo como destaque 4 proteínas anti-apoptóticas: Bcl-xL, Bcl-w, A1 e Mcl1, e dois grupos de proteínas promotoras de apoptose: Bax e BH3 (FONSECA, 2013).

Em estudos ligados ao câncer, a proteína Bcl-2 foi inicialmente identificada como uma proteína reguladora anti-apoptótica, mas também serve como um inibidor da proliferação. A função da Bcl-2 na tumorigênese é ambígua, visto que o efeito antiapoptótico pode ser oncogênico, enquanto o efeito antiproliferativo se mostra como supressor de tumor. Essa atividade parece variar de acordo com o tecido em que se encontra, e da mesma forma, parece explicar a diferença da expressão de Bcl-2 dependendo do tipo de câncer (FERNANDES et al., 2015).

## **Gene *BAX***

Bax é uma proteína pró-apoptótica e controla a apoptose através da regulação da permeabilização da membrana externa mitocondrial. Essa permeabilização



provoca liberação de citocromo C, fator indutor de apoptose (AIF) e outras moléculas pró-apoptóticas, que promovem a ativação de caspases apoptóticas (como a 3, a 6 e a 7), resultando assim, em morte celular programada. A proteína Bax pode formar homodímeros que promovem a morte celular, ou, pode formar heterodímeros com Bcl-2 ou Bcl-xL, inibindo dessa forma a apoptose. O papel apoptótico de Bax depende da proporção de Bcl-2, no qual, a baixa quantidade induz maior atividade apoptótica de Bax (FONSECA, 2013). O aumento da expressão de *BAX* pode contribuir para um melhor prognóstico da apoptose em vários tipos de câncer, como carcinoma hepatocelular, câncer colorretal e carcinoma nasofaríngeo (FERNANDES et al., 2015). O gene *BAX* foi mapeado no cromossomo 19q13.3. Um SNP localizado dentro da região não traduzida do promotor *BAX-248G, -248A* (rs4645878), foi descrito, e o alelo A foi relatado como associado tanto à redução da expressão da proteína Bax quanto à sensibilidade à leucemia linfocítica crônica (FERNANDES et al., 2015).

Assim como *BCL2*, o papel de *BAX* em cânceres ainda é controverso. Certos tipos de câncer têm como mecanismo a estimulação da degradação de p53 e consequente inibição do efeito apoptótico do *BAX* pós-transcricionalmente, contribuindo com a proliferação celular desenfreada (FERNANDES et al., 2015). Porém, apresenta certa participação em outras doenças. Em um estudo feito por Najjar e colaboradores (2010), foi observada *up-regulation* de *BAX* e *down-regulation* de *BCL-2* em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Isso mostra uma possível relação entre os genes pró-apoptóticos como *BAX* e complicações cardiovasculares relacionadas à SM.

## JUSTIFICATIVA

De acordo com uma meta-análise feita por Sahu e Choudhuri (2013) o polimorfismo *BAX* – 248 G/A não é um importante fator de risco para o câncer, apesar de ser estudo de diversos tipos de câncer, como leucemia linfocítica crônica, câncer de pulmão, câncer de mama e câncer gastrointestinal. No entanto, estudos adicionais bem planejados, com amostras maiores, com foco em diferentes etnias e tipos de câncer, são necessários para validar ainda mais os resultados. O gene *BAX*, por configurar-se como pró-apoptótico, foi estudado como parte de uma possibilidade de abordagem terapêutica do infarto agudo do miocárdio (IAM). Nesses pacientes, ele apresenta *up-regulation*, de forma que, inibindo esse aumento, a apoptose durante a recuperação dos pacientes também é diminuída, melhorando assim o (NAJAR et al., 2010).

Diante da vasta gama de alterações metabólicas que a Síndrome Metabólica causa, entre elas, aumento da susceptibilidade a problemas cardiovasculares, aumento de tolerância à glicose e alterações metabólicas em geral (AZAMBUJA et al., 2015), é de extrema importância que esta doença seja estudada, a fim de evoluir a pesquisa sobre um possível tratamento, diagnóstico, predisposições e afins, produzindo assim, medidas de controle de risco. Dessa forma, é necessário avaliar o processo envolvido e verificar uma possível associação entre o gene *BAX* e a presença desta síndrome.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Verificar a possível relação entre o polimorfismo do gene *BAX* – 248 G/A e o acometimento de Síndrome Metabólica em pacientes idosas.

### **Objetivos específicos**

Pesquisar literatura relacionada e fazer um levantamento sobre o polimorfismo do gene *BAX*, descrevendo suas características específicas. Realizar estudo da Síndrome Metabólica e investigar possível associação entre o gene *BAX* e as características clínicas da doença.

## REFERÊNCIAS

- 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. Secretaria da Saude do Estado da Bahia. <http://dx.doi.org/10.5327/z0100-0233-2015390300002>.
- COMÓS, J. Bel; VALLES, M. Murillo. Obesidad y síndrome metabólico. **Asociación Española de Pediatría: Protocolos de Endocrinología**, Barcelona, v. 1, 2011.
- CUNHA, Renato Augusto Silva. **Polimorfismo da região promotora do gene BAX em grupo de indivíduos diagnosticados com acidente vascular cerebral hemorrágico (AVCH) ou aneurisma intracraniano em uma amostra populacional do Distrito Federal**. 2018. 49 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, 2018.
- DOMINGUES, Germana Andreia Taipa Leandro. **Polimorfismos em genes associados à apoptose e susceptibilidade genética ao cancro da mama**. 2008. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Molecular e Genética, Biologia Vegetal, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2008.
- FARIA, Mário Henrique Girão et al. **Expressão das proteínas BCL-2 e BAX em tumores astrocíticos humanos**. 2006.
- FERNANDES, Ana Teresa G. et al. Polymorphism in apoptotic BAX (-248G>A) gene but not in anti-apoptotic BCL2 (-938C>A) gene and its protein and mRNA expression are associated with cervical intraepithelial neoplasia. **Apoptosis**, [s.l.], v. 20, n. 10, p.1347-1357, 14 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10495-015-1156-7>.
- FOGAL, Aline Siqueira et al. Prevalência de síndrome metabólica em idosos: uma revisão sistemática. **Rasbran - Revista da Associação Brasileira de Nutrição**, São Paulo, v. 1, n. 6, p.29-35, 2014.
- FONSECA, Eveline Aparecida Isquierdo. **Efeito da Metformina sobre o desenvolvimento tumoral na obesidade: mecanismos envolvidos**. 2013. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- KIRAZ, Yağmur et al. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. **Tumor Biology**, [s.l.], v. 37, n. 7, p.8471-8486, 9 abr. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-016-5035-9>.
- LUCHS, Adriana; PANTALEÃO, Claudia. Apoptosis and in vivo models to study the molecules related to this phenomenon. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 8, n. 4, p.495-497, dez. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082010rb1685>.
- NAJAR, Reza et al. The role of p53, bax, bcl2, and 8-OHdG in human acute myocardial infarction. **Open Life Sciences**, [s.l.], v. 5, n. 4, p.439-445, 1 jan. 2010. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.2478/s11535-010-0030-4>.

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. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00129918>.

RAMIRES, E. K. et al. Prevalência e fatores associados com a Síndrome Metabólica na população adulta brasileira: pesquisa nacional de saúde - 2013. *Arq Bras Cardiol*, v. 110, n. 5, p. 455-466, 2018.

RIGO, Julio Cesar et al. Prevalência de Síndrome Metabólica em Idosos de uma Comunidade: Comparação entre Três Métodos Diagnósticos. *Arq Bras Cardiol*, Porto Alegre, p.85-91, 2009.

RIVAS VAZQUEZ, Daimaris et al. Comportamiento clínico epidemiológico del síndrome metabólico en pacientes adultos. *Rev Cubana Med Gen Integr*, Ciudad de La Habana, v. 31, n. 3, sept. 2015.

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. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20140013>

SAHU, Sushil Kumar; CHOUDHURI, Tathagata. Lack of Association between Bax Promoter (-248G>A) Single Nucleotide Polymorphism and Susceptibility towards Cancer: Evidence from a Meta-Analysis. **Plos One**, [s.l.], v. 8, n. 10, e. 77534, 17 out. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0077534>.

TRATAMENTO, DIAGNÓSTICO E. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 84, n. Suplemento I, 2005.

**CAPÍTULO II**

**Artigo a ser submetido à revista *Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine* (JBPML)**

**ARTIGO**

**Título:** Polimorfismo do gene *BAX* em idosos com Síndrome Metabólica.

**Título em inglês:** *BAX* gene polymorphism in the elderly with Metabolic Syndrome.

**Autores:** Teixeira MS<sup>1</sup>, Freitas RS<sup>2</sup>, Cardoso LCA<sup>3</sup>, Silva CMS<sup>4</sup>, Lima LR<sup>1</sup>, Stival MM<sup>1</sup>, Funghetto SS<sup>1</sup>, Silva ICR<sup>1</sup>

**Afiliações:**

<sup>1</sup>Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE

<sup>2</sup>Centro Universitário do Distrito Federal – UDF

<sup>3</sup>Faculdade LS

<sup>4</sup>Universidade de Brasília - UnB

**Autor correspondente:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

**Endereço:** Campus Universitário, s/n, Centro Metropolitano, Brasília-DF, 72220-275.

**Telefone:** (61) 3107-8400

**E-mail:** belbiomedica@gmail.com

## Resumo

Hipertensão arterial sistêmica (HAS), Diabetes Mellitus (DM) e distúrbios lipídicos são os componentes principais da doença conhecida como Síndrome Metabólica (SM). Sua definição ainda é levemente difusa, tendo variações de acordo com a organização que a define e o ponto de partida utilizado. Sua prevalência é mais elevada em pessoas idosas, por conta das alterações metabólicas sofridas com o passar dos anos, e está intimamente ligada com o modo de vida que determinada população estudada leva, como hábitos alimentares, frequência da prática de exercícios físicos e cuidados com a saúde. A influência genética ainda é estudada, mas estudos incluem certos tipos de genes que podem ter relação com um ou mais de seus componentes. Um exemplo estudado é o gene *BAX*, um gene pró-apoptótico pertencente à família *BCL-2*, que já foi anteriormente citado em estudos relacionados à alterações cardíacas e vasculares, além de apoptose de organelas responsáveis por funções metabólicas no organismo. Tendo como objetivo avaliar o nível de correlação entre o polimorfismo *BAX* -248 G/A (rs4645878) e a SM, foi feito este estudo do tipo caso-controle com um grupo de 94 pacientes do sexo feminino, com idade igual ou maior a 60 anos, participantes do programa de Estratégia de Saúde da Família do Distrito Federal. Observou-se que se tratando da variável hipertensão dentro da Síndrome Metabólica, 35,2% das pacientes do grupo caso (n = 25) manifestaram a presença do alelo mutante. Quanto à variável diabetes relacionada à SM, esse resultado foi de 38,8% das pacientes (n = 19). Essa diferença estatística apresentada sugere uma possível influência do gene *BAX* em alterações metabólicas presentes na doença, provavelmente tendo relação com seu mecanismo apoptótico. Acredita-se que seja necessário um aprofundamento no estudo da doença e de sua relação com o gene, além de melhorias nas políticas públicas de saúde, a fim de assegurar a prevenção, o diagnóstico e o tratamento adequado.

**Palavras-Chave:** Polimorfismo. *BAX*. Síndrome Metabólica. Hipertensão. Diabetes.



## Abstract

Hypertension, diabetes and lipid disorders are the main components of the condition known as Metabolic Syndrome (MS). Its definition is still slightly diffuse, with variations according to the organization that defines it and the starting point used. Its prevalence is higher in older people, due to the metabolic changes suffered over the years, and is closely related to the lifestyle that a specific studied population has, according to their eating habits, frequency of physical exercise and health care. Genetic influence is still researched, but studies include certain types of genes that may relate to one or more of its components. A studied example is the *BAX* gene, a pro-apoptotic gene belonging to the BCL-2 family, which has been previously mentioned in studies related to cardiac and vascular changes, as well as apoptosis of organelles responsible for metabolic functions in the body. The *BAX* -248 G / A polymorphism (rs4645878) is a *BAX* gene-related single nucleotide polymorphism (SNP) that is characterized by the presence of guanine nucleotides in the wild allele and adenine in the variant allele (exchange of base G for A). , and is found in the 5' untranslated region, in the promoter region -248 of that gene. Aiming at evaluating the correlation level between the *BAX* -248 G / A (rs4645878) polymorphism and MS, this case-control study was conducted with a group of 94 female patients aged 60 and over, participants in the Family Health Strategy program from Distrito Federal. Regarding the hypertension variable within the Metabolic Syndrome, 35.2% of the patients in the case group (n = 25) manifested the presence of the mutant allele. For the diabetes variable related to MS, this result was 38.8% of the patients (n = 19). This statistical difference suggests a possible influence of the *BAX* gene on metabolic alterations present in the disease, probably related to its apoptotic mechanism. It is believed that further study of the disease and its relationship with the gene is necessary, as well as improvements in public health policies to ensure prevention, diagnosis and proper treatment.

**Keywords:** *Polymorphism. BAX. Metabolic Syndrome. Hypertension. Diabetes.*

## Introdução

A Síndrome Metabólica é um conjunto de fatores de risco cardiometabólicos, no qual os principais componentes são: resistência insulínica (RI), distúrbios cardiovasculares e distúrbios lipídicos <sup>[1]</sup>. Antes de ser chamada assim, já teve outros nomes, como Síndrome X, Síndrome de Reaven e Síndrome de Resistência à Insulina <sup>[2]</sup>. Sua definição pode variar de acordo com o critério, mas o ponto em comum em todos é a disfunção metabólica presente.

Por se tratar de uma doença estritamente ligada aos hábitos alimentares e à obesidade, seu aumento das últimas duas ou três décadas é visível, visto que de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência mundial de obesidade dobrou nas últimas 3 décadas e pelo menos um terço dos adultos com mais de 20 anos tem sobrepeso ou obesidade. Além disso, a prevalência deste conjunto também aumenta com a idade, por isso é maior entre a população idosa, com 65 anos ou mais.

Em decorrência de sua causa multifatorial, não se sabe exatamente a etiologia de suas causas. Como dito anteriormente, a obesidade é um fator de extrema relevância no curso da doença. Os mecanismos pelos quais a obesidade gera hipertensão arterial sistêmica (HAS), por exemplo, são, inicialmente, o aumento da absorção de sódio na alça de Henle e o aumento da pressão arterial para excretar sódio (natriurese por pressão). Em um dos tipos de causas da diabetes (hiperinsulinemia), ocorre o aumento da ativação da renina-angiotensina-aldosterona, a compressão da gordura perirrenal e a invasão desta na medula, como também o aumento da atividade simpática, consideradas as causas da natriurese por pressão e o aumento da absorção tubular de sódio. Como uma forma compensatória, há um aumento na filtração glomerular, que acaba sendo insuficiente quando comparada ao aumento da reabsorção tubular <sup>[3]</sup>. Isso prova a correlação entre três componentes da SM, que estão interligados entre si.

A apoptose ocorre através de duas principais vias, extrínseca e intrínseca. Na via intrínseca, a integridade da membrana externa mitocondrial está comprometida; isto leva à liberação do citocromo C e desencadeia o programa apoptótico. É amplamente relatado o envolvimento dos membros da família *BCL2* na regulação do progresso da apoptose celular.

Genes transcricionais anti-apoptóticos e pró-apoptóticos como *BCL2* e *BAX*, respectivamente, fazem parte dessa família. O gene *BAX* (*(Bcl)-2-like protein 4*) funciona como um gene apoptótico que leva à liberação do citocromo C e promove apoptose. Por outro lado, *BCL2* actua como um gene anti-apoptótico e impede a morte associada à apoptose. A interação entre proteínas apoptóticas e anti-apoptóticas determina a sobrevivência das células [4].

A proteína Bcl-2 está localizada principalmente na membrana mitocondrial, membrana nuclear e membrana lisa retículo endoplasmático nas células e pode inibir a apoptose celular de uma variedade de causas. A proteína Bax é distribuída principalmente no citoplasma e migra do citoplasma para a membrana mitocondrial quando as células recebem sinais apoptóticos, levando a danos à membrana mitocondrial e apoptose.

Apoptose e inflamação são fatores que contribuem para a hipertrofia cardíaca e para a remodelação vascular na Hipertensão Arterial Sistêmica. A apoptose reduz a número de células do miocárdio, reduzindo a contratilidade miocárdica, o que sustenta o papel da apoptose no desenvolvimento e progressão das doenças cardíacas [5].

Estudos reportam o aumento da expressão de Bax na apoptose do tecido cardíaco [6]. Além disso, com a desregulação da apoptose, desenvolve-se uma disfunção mitocondrial. As mitocôndrias são organelas com papéis em atividades metabólicas, como metabolismo de ácidos graxos e glicólise. Como resultado da disfunção mitocondrial, os distúrbios metabólicos - como resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2 – se desenvolvem [7].

O aumento da idade é um fator que colabora para o desenvolvimento da doença devido ao maior risco cardiovascular e de diabetes. Fora isso, vários estudos demonstraram que a cessação da menstruação provoca aumento no risco cardiovascular em mulheres, resultado de uma deficiência de hormônios cardioprotetores e estrógenos. Além disso, nessa fase (a partir da menopausa) ocorrem alterações metabólicas, como elevações do colesterol total, das lipoproteínas de baixa densidade e dos triglicérides e diminuição das lipoproteínas de alta densidade.

Por outro lado, a menopausa tem um papel proeminente no aumento da pressão arterial, uma vez que a redução do estradiol e do estrogênio provoca

disfunção endotelial e rigidez arterial e, conseqüentemente, o aumento da ativação simpática que favorece o aumento da renina e angiotensina II [8].

## **Objetivo**

O seguinte estudo tem como objetivo analisar o padrão de presença do polimorfismo do gene *BAX* em pacientes idosas do Distrito Federal portadoras de Síndrome Metabólica diagnosticadas com HAS e/ou DM, e comparar com os controles normotensos e normoglicêmicos.

## **Materiais e Métodos**

O presente estudo se trata de um estudo observacional, descritivo de caso-controle, no qual, para sua elaboração, participaram 94 pacientes idosas, com idade  $\geq$  a 60 anos, das quais 71 possuíam HAS, contra 23 do grupo de controles normotensos, e 49 possuíam diabetes, contra 45 do grupo controle normoglicêmicos. Todas fazem parte do programa de Estratégia de Saúde da Família (ESF), incorporado no tratamento de pacientes das Unidades Básicas de Saúde 06 e 08 de Ceilândia – DF. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal conforme o ANEXO 1.

### ***Critérios de inclusão utilizados para a escolha das pacientes***

Foram considerados como critérios de inclusão do grupo caso: pacientes do sexo feminino, com idade igual ou superior a 60 anos, diagnosticadas com SM que possuíam HAS e/ou DM, e que fazem parte da ESF.

### ***Análise laboratorial***

Foi feita a coleta de 10 mL de sangue venoso de cada paciente, para que posteriormente fosse feita a extração de DNA. O kit utilizado para tal foi o *Invisorb Spin Blood Mini Kit (250)* da empresa Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300, Alemanha). A partir daí, a concentração de DNA foi mensurada pelo espectrofotômetro NANODROP Technologies Inc., Wilmington, DE, USA, tendo como alcance uma concentração média de 20 ng/ $\mu$ L.

Após a extração, utilizou-se da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que consiste na amplificação de um fragmento específico de DNA em milhões de vezes, para a genotipagem de *BAX* (248 G>A). Para que fosse feito o processo, houve um preparo de um *master mix* contendo as seguintes quantidades de reagentes:

- 4,0 µL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/µL;
- 2,5µL de tampão 10X Taq Pol,;
- 0,5 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µL de dNTPs;
- 0,5 µL de Taq-Polimerase;
- 1,5µL de cada oligonucleotídeo (*forward* e *reverse*);
- q.s.p. água ultrapura para um volume final de 25 µL por reação.

Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo no termociclador *Techn* modelo TC-512.

As condições de termociclagem foram as seguintes: 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial), seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, acompanhada de 60°C por 45 segundos, para o anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C por 30 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final realizada levou 72°C por 10 minutos. Estes oligonucleotídeos flanqueiam o gene *BAX* e amplificam um fragmento de DNA de 109 pb <sup>[9]</sup>.

**Tabela 1** – Oligonucleotídeos utilizados no processo de PCR

5'-TGG AGC TGC AGA GGA TGA TTG-	<i>Forward</i>
3'	
5'-GAA GTT GCC GTC AGA AAA CAT	<i>Reverse</i>
G-3'	

Fonte: Autora.

Após esse processo, para obtenção de marcadores polimórficos, os produtos da PCR podem ser digeridos por enzimas de restrição gerando fragmentos de tamanhos variados denominados RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição). As enzimas de restrição clivam o DNA em locais específicos, denominados sítios de restrição (SCHINCARIOL, 2011). Com isso, o produto da PCR foi digerido com a enzima *MspI* (*New England Biolabs, Inc. Beverly,*

MA, USA). O alelo ancestral (G) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 109 pb é clivado em dois de 89 pb e 20 pb; o alelo polimórfico (A) não é clivado pela enzima. Para montagem do sistema de digestão, foram utilizados: 10,0 µL da PCR; 2,0 µL de tampão 10x *CutSmart® Buffer* (Biolabs); 1,0 µL de enzima *MspI* (10U/µL), completando com água Milli-Q para um volume final de 20 µL por reação. O sistema foi mantido a 37°C por 2 horas.

Os produtos da PCR passaram posteriormente por uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, contendo o corante brometo de etídio e em uma potência de 100W por 20 minutos.

### **Processamento de dados**

Para processamento de resultados, tanto o perfil genético dos indivíduos quanto suas manifestações clínicas foram analisados no programa SPSS, versão 25.0, visando observar se realmente houve associação entre o polimorfismo estudado e a SM nas pacientes. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

### **Resultados**

Utilizando-se como fundamento dos cálculos o teste qui-quadrado de Pearson e o teste exato de Fisher, os resultados obtidos são esquematizados em tabelas a seguir. Ao se avaliar a genotipagem e associar com a presença ou não de HAS foi possível observar que 64,8% ( $n = 46$ ) das mulheres que possuem HAS manifestam o genótipo G/G, 29,6% ( $n = 21$ ) manifestam o genótipo G/A e 5,6% ( $n = 4$ ) manifestam o genótipo A/A. Quando se trata das 23 pacientes com ausência de HAS, 95,7% manifestam o genótipo G/G ( $n = 22$ ), 4,3% ( $n = 1$ ) manifesta o genótipo G/A e nenhuma manifesta o genótipo A/A ( $p = 0,016$ ), como observado na Tabela 2. Houve diferença estatística.

**Tabela 2** - Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo *BAX G/A* (-248) e da manifestação de Hipertensão Arterial Sistêmica.

		Hipertensão Arterial Sistêmica				p
		sim		não		
		n	%	n	%	
<i>BAX G/A</i> (-248)	G/G	46	64,8%	22	95,7%	0,016*
	G/A	21	29,6%	1	4,3%	
	A/A	4	5,6%	0	0,0%	
Total:		71		23		

\*diferente estatisticamente

Fonte: Autora.

Com relação ao componente Diabetes Mellitus, expresso na tabela 3, das 49 pacientes que apresentam a doença, 61,2% (n = 30) manifestam o genótipo G/G, 30,6% (n = 15) manifestam o genótipo G/A e 8,2% (n = 4) manifestam o genótipo A/A. Quanto às pacientes com ausência de diabetes (n = 45), 84,4% (n = 38) possuem o genótipo G/G, 15,6% (n = 7) possuem o genótipo G/A e nenhuma manifesta o genótipo A/A (p = 0,021). Houve diferença estatística.

**Tabela 3** - Distribuição da frequência genotípica do polimorfismo *BAX G/A* (-248) e da manifestação de Diabetes.

		Diabetes Mellitus				p
		sim		não		
		n	%	n	%	
<i>BAX G/A</i> (-248)	G/G	30	61,2%	38	84,4%	0,021*
	G/A	15	30,6%	7	15,6%	
	A/A	4	8,2%	0	0,0%	
Total:		49		45		

\*diferente estatisticamente

Fonte: Autora.

Para avaliar a associação entre a presença do genótipo selvagem contra presença de pelo menos um alelo mutado, dicotomizou-se ambas as patologias associadas ao polimorfismo *BAX G/A* (-248). Pode-se observar que 46 pacientes com HAS (64,8%) possuem o genótipo G/G e 25 pacientes (35,2%) manifestam o alelo

mutante A (G/A e A/A). Quanto à ausência, 22 pacientes (95,7%) manifestam o genótipo G/G enquanto 1 (4,3%) manifestam o alelo A (G/A e A/A) ( $p = 0,004$ , OR = 11,95 e IC = 1,520 – 94,033), como pode ser observado na Tabela 4. Houve diferença estatística.

**Tabela 4** - Distribuição dicotomizada da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Hipertensão Arterial Sistêmica.

		Hipertensão Arterial Sistêmica				p	OR	IC
		sim		não				
		n	%	n	%			
<i>BAX</i> G/A (-248)	G/G	46	64,8%	22	95,7%	0,004*	11,95	(1,520 - 94,033)
	G/A + A/A	25	35,2%	1	4,3%			
Total:		71		23				

\*diferente estatisticamente

Fonte: Autora.

Na Tabela 5 é possível observar que 30 pacientes com DM (61,2%) manifestam o genótipo G/G, enquanto 19 pacientes (38,8%) manifestam os genótipos G/A e A/A. Com relação à ausência de diabetes, 38 pacientes (84,4%) manifestam o genótipo G/G e 7 pacientes (15,6%) manifestam os genótipos G/A e A/A ( $p = 0,011$ , OR = 3,43 e IC = 1,277 a 9,252). Houve diferença estatística.

**Tabela 5** - Distribuição dicotomizada da frequência genotípica do polimorfismo *BAX* G/A (-248) e da manifestação de Diabetes.

		Diabetes Mellitus				p	OR	IC
		sim		não				
		n	%	n	%			
<i>BAX</i> G/A (-248)	G/G	30	61,2%	38	84,4%	0,011*	3,43	(1,277 - 9,252)
	G/A + A/A	19	38,8%	7	15,6%			
Total:		49		45				

\*diferente estatisticamente

Fonte: Autora.



## Discussão

Este estudo foi o primeiro a investigar a associação do polimorfismo do gene *BAX* com as características clínicas da Síndrome Metabólica em uma amostra da população brasileira. Haller e Singer utilizaram o termo "síndrome metabólica" em publicações em alemão onde relataram suas observações em estudos feitos com pacientes com dislipidemia. Haller incluiu obesidade, diabetes, hiperlipoproteinemia, gota e fígado gorduroso na síndrome, enquanto Singer incluiu os 4 primeiros componentes mas acrescentou HAS. Professor Phillips (Columbia University) percebeu que havia uma coexistência do metabolismo prejudicado da glicose com hiperinsulinemia, hiperlipidemia e HAS, o que levava ao aumento do risco de infarto do miocárdio (IM) [2].

Visto que a HAS e a diabetes são componentes presentes desde os conceitos iniciais da doença, o foco deste trabalho foi em ambos os fatores, visando verificar sua presença quando relacionado ao polimorfismo G/A do gene *BAX*. De acordo com os valores de  $p$  apresentados nas tabelas ( $p < 0,05$  em todas), pôde-se observar diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle.

Essa diferença de expressão do polimorfismo específico do gene nas pacientes do grupo caso possivelmente está relacionada com o seu mecanismo pró-apoptótico, que está presente na fisiopatologia da HAS, além de provocar danos mitocondriais responsáveis por distúrbios metabólicos, como os causadores da dislipidemia e, principalmente, da diabetes.

Em estudo feito com pacientes com psoríase com e sem Síndrome Metabólica, resultados mostraram aumento significativo do nível de expressão de *BAX* nos pacientes que possuíam SM [7]. Se tratando de um de seus componentes principais, a hipertensão, de acordo com Liu e colaboradores (2019) em estudo feito com pacientes com insuficiência cardíaca, há o aumento de *BAX* e diminuição de *BCL-2* em eventos cardíacos, indicando o aumento da apoptose nos miócitos durante os acontecimentos [5]. Outra pesquisa feita por Najar e colaboradores demonstra que houve uma *up-regulation* de *BAX* em pacientes que já tiveram episódios de infarto do miocárdio em relação a pacientes saudáveis, reafirmando esta hipótese [10]. Da

mesma forma pudemos observar no presente trabalho, onde houve aumento do risco de hipertensão para as pacientes com o polimorfismo mencionado.

Um estudo em pacientes diabéticos utilizando fitofármacos antidiabéticos apresentou como resultado um *down-regulation* da expressão de *BAX* (a nível de gene e proteína). O equilíbrio entre as moléculas anti e pró-apoptóticas foi medido pela razão *BAX / BCL2*, e tem um papel importante no destino das células diante de condições estressantes. Como resultado do estudo, houve a diminuição dessa proporção na presença do fármaco na cultura de ilhotas pancreáticas humanas, demonstrando o processo de apoptose de *BAX* em células presentes nas ilhotas pancreáticas [4].

Como esta síndrome apresenta conhecidos fatores de risco cardiovascular e cardiometabólico, nos quais o efeito dos diferentes fatores é sinérgico e multiplicativo, de forma a amplificar os efeitos individuais, muitas vezes não é possível estabelecer uma relação de causa-efeito entre os fatores isolados e a SM.

## Conclusão

A partir das análises estatísticas feitas neste estudo, conclui-se que indivíduos portadores da mutação possuem maior risco de terem hipertensão e diabetes quando portadores de SM. Devido ao impacto desses fatores de risco na saúde da sociedade, a necessidade de mudanças urgentes na educação em saúde da população e nas políticas de saúde é óbvia. Com a comprovação da diferença estatística presente, é fundamental que novos estudos com o gene *BAX* sejam feitos, além dos estudos sobre prevalência da doença, a fim de se aprofundar o conhecimento em torno dessa doença de diagnóstico ainda impreciso, para assim, organizar e implementar as estratégias preventivas e de tratamento.

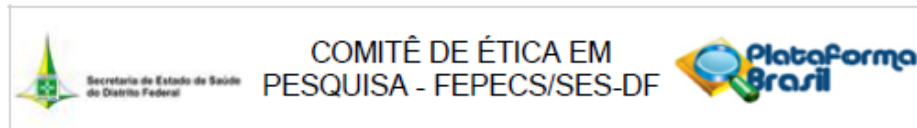
## Referências

- [1] Li X, Cao C, Tang X, Yan X, Zhou H, Liu J, et al. Prevalence of Metabolic Syndrome and Its Determinants in Newly-Diagnosed Adult-Onset Diabetes in China: A Multi-Center, Cross-Sectional Survey. *Frontiers In Endocrinology*. 2019 10;10:1 – 9.
- [2] Samson SL, Garber AJ. Metabolic Syndrome. *Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America*. 2014 03;43(1):1 – 23.

- [3] Casilimas GAG, Martin DA, Alejandra Martínez M, Merchán CR, Mayorga CA, Barragán AF. Fisiopatología de la hipertensión arterial secundaria a obesidad. Archivos de Cardiología de México. 2017 10;87(4):336 – 344. KAVIANIA, Maryam et al. Cytoprotective Effects of Ginsenoside RD on Apoptosis-associated Cell Death in The Isolated Human Pancreatic Islets. **Excli Journal**, Iran, p.666-676, 22 ago. 2019.
- [4] Kaviani M, Keshtkar S, Azarpira N, Aghdaei MH, Geramizadeh B, Karimi MH, et al. Cytoprotective Effects of Ginsenoside RD on Apoptosis-associated Cell Death in The Isolated Human Pancreatic Islets. **Excli Journal**. 2019 08;18:666 – 676.
- [5] Liu W, Ru L, Su C, Qi S, Qi X. Serum Levels of Inflammatory Cytokines and Expression of BCL2 and BAX mRNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells and in Patients with Chronic Heart Failure. **Medical Science Monitor**. 2019 04;25:2633 – 2639.
- [6] Lee H, Kim KC, Hong YM. Changes of Bax, Bcl-2, CCR-2, MCP-1, and TGF-1 genes in the left ventricle of spontaneously hypertensive rat after losartan treatment. **Korean Journal Of Pediatrics**. 2019 03;62(3):95 – 101.
- [7] Korkmaz S, Korkmaz H. Effect of alterations in apoptotic pathway on development of metabolic syndrome in patients with psoriasis vulgaris. **British Journal Of Dermatology**. 2017 04;176(6):1549 – 1557.
- [8] Rodríguez AS, Soidán JLG, Arias Gómez MJ, del Álamo Alonso A, Rodríguez RL, Pérez Fernández MR. Intervención educativa sobre parámetros cardiovasculares en mujeres perimenopáusicas con un factor de riesgo cardiovascular. Ensayo clínico aleatorizado. **Medicina Clínica**. 2018 03;150(5):178 – 184.
- [9] Cunha RAS. Polimorfismo da região promotora do gene BAX em grupo de indivíduos diagnosticados com acidente vascular cerebral hemorrágico (AVCH) ou aneurisma intracraniano em uma amostra populacional do Distrito Federal [Farmácia]; 2019.
- [10] Najjar RA, Ghaderian SMH, Vakili H, Panah AST, Farimani AR, Rezaie G, et al. The role of p53, bax, bcl2, and 8-OHdG in human acute myocardial infarction. **Open Life Sciences**. 2010 01;5(4):439 – 445.

## ANEXOS

### Anexo I – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa



#### 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:** 50367215.5.0000.5553

**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

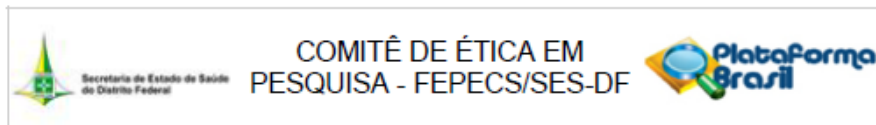
##### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

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 486 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_P ROJETO 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

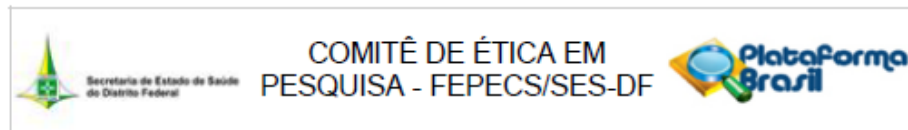
**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPCS  
 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

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

## 3- Alimentação

Nº de refeições por dia: \_\_\_\_\_

Tem restrição alimentar? ( ) Não. ( ) Sim. Se sim, a qual alimento? \_\_\_\_\_

Faz dieta alimentar? ( ) Não. ( ) Sim.

## 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 da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)**

### **Instruções aos autores**

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.

### **Ética**

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Quando pertinente, o trabalho enviado deverá ser acompanhado de consentimento, por escrito, do paciente e de cópia da aprovação (certificado) do comitê de ética da

instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, 1989.

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1996).

As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

### **Responsabilidade da autoria e conflito de interesses**

De acordo com as diretrizes elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizada em 2013, a autoria deve ser validada para: a) concepção e projeto do trabalho ou aquisição, análise e interpretação dos dados; b) redação inicial do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo; c) aprovação final da versão para publicação; d) responsabilidade para todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas com acurácia ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e analisadas. Todos os autores listados no artigo devem preencher os quatro critérios de validação de autoria para serem designados como tal. Os participantes do trabalho que não preencherem os quatro critérios devem ser incluídos na seção de Agradecimentos (Acknowledgements). O autor principal deve especificar a contribuição de cada um nas diferentes etapas do estudo.

Do mesmo modo, o autor principal deve declarar ou negar a existência de possíveis conflitos de interesse. Caso exista algum conflito, ele deve ser especificado como nota no final do artigo.

## **Titulação**

O nome dos autores deverá ser referido da seguinte forma: primeiro nome e último sobrenome serão grafados por extenso e nomes intermediários serão abreviados. Acrescentar após o nome de cada autor seu respectivo ORCID. Deve-se inserir nos créditos apenas a Instituição onde cada autor atua. O nome da instituição será grafado em português ou no idioma do país sede da instituição, relacionado por número ao nome dos autores correspondentes.

## **RESUMOS E UNITERMOS**

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais e artigos de revisão; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves).

Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês.

## **Agradecimentos**

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

## **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.

#### *Arte na ciência*

Nesta seção, serão aceitas manifestações artísticas relacionadas com a ciência e documentações científicas que possam ser consideradas como arte. Incluem-se, mas não esgotam as possibilidades, textos literários, poemas, fotografias, quadros e figuras.

#### *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

Mendeenhall 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.

## **Abreviações 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.

## **Contato com a secretaria do JBPML**

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial

Tel.: +55 (21) 3077-1400

e-mail: [jbpml@sbpc.org.br](mailto:jbpml@sbpc.org.br)