



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB
FACULDADE DE CEILÂNDIA - FCE
CURSO DE FARMÁCIA

ANA PAULA ARAÚJO DA SILVA

**POLIMORFISMO DO GENE *IL10* -819 C>T E SUAS ASSOCIAÇÕES COM A
SINDROME METABÓLICA**

BRASÍLIA, 2021

ANA PAULA ARAÚJO DA SILVA

POLIMORFISMO DO GENE *IL10* -819 C>T E SUAS ASSOCIAÇÕES COM A SINDROME METABÓLICA

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

Orientadora: Aline Ribeiro Barros

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2021

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

Ap Araujo da Silva, Ana Paula
Polimorfismo do gene IL10 -819 C>T e suas associações com
a Síndrome Metabólica / Ana Paula Araujo da Silva;
orientador Aline Ribeiro Barros; co-orientador Izabel
Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2021.
63 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2021.

1. Polimorfismo. 2. Interleucina 10 . 3. Síndrome
Metabólica. I. Ribeiro Barros, Aline , orient. II. Cristina
Rodrigues da Silva, Izabel , co-orient. III. Título.

ANA PAULA ARAÚJO DA SILVA

**POLIMORFISMO DO GENE IL10 -819 C>T E SUAS ASSOCIAÇÕES COM A
SINDROME METABÓLICA**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Aline Ribeiro Barros
(Universidade de Brasília - FCE)

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(Universidade de Brasília - FCE)

Samuel Dias Araújo Júnior
(Universidade Católica de Brasília - UCB)

Lígia Canongia de Abreu Cardoso Duarte
(Universidade de Brasília - FCE)

BRASÍLIA, 2021

*À Deus primeiramente.
Aos meus pais, irmãos e juntamente à
eles, minhas cunhadas, que tanto me
apoiaram sem medirem esforços,
mesmo ouvindo que: “eu não fiz mais
que minha obrigação”.*

-Ana Paula Araújo da Silva, 2021.

AGRADECIMENTOS

Cheguei até aqui e posso compartilhar que: - Apenas deseje o melhor para si, não confie em sua motivação, e sim na sua disciplina!

Início esse projeto agradecendo primeiramente à Deus por permitir que todos que eu amo estejam bem e saudáveis para que eu possa compartilhar essa conquista. Infelizmente, por motivos maiores, não conseguirei ver o rostinho de cada um que eu desejaria que estivesse comigo em minha defesa presencialmente, porém sei que sempre terei apoio e carinho independente da circunstância e distância.

Com início em 2015, hoje eu mesma vejo o quanto o humano possui a habilidade e a capacidade de sempre se superar. Metas e ambições pessoais, estão presentes, tendo apoio ou não, e o que importa em tudo isso é sua autoconfiança. E nessa linha de pensamento eu agradeço todos os desafios e obstáculos que foram a mim designados, por mais dolorosos e cansativos, eu não seria a pessoa que mais admiro hoje, se eles não tivessem ali para me desconstruir e permitir reestruturar-me, intensificando meus pilares para que o céu seja o limite.

- “Tinha que acontecer! ”

E hoje só tenho de agradecer e mostrar como sou grata por cada pequeno gesto em minha vida, e desejar que eu possa transmitir essa gratidão ao universo.

Ana Paula Araújo da Silva;

2021

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO COM REVISÃO DE LITERATURA E JUSTIFICATIVA | 10 |
| 1.1 | Síndrome Metabólica | 13 |
| 1.1.1 | Conceituação | 13 |
| 1.1.2 | Epidemiologia | 15 |
| 1.1.3 | Diagnóstico clínico e avaliação laboratorial | 17 |
| 1.1.4 | Patogênese | 19 |
| 1.1.4.1 | Marcadores inflamatórios | 23 |
| 1.1.5 | Interleucina 10 (IL-10) 819 C/T | 24 |
| 1.1.6 | Polimorfismo Interleucina 10 (IL-10) 819 C/T | 25 |
| 1.1.7 | Interleucina 10 (IL-10) e a Síndrome metabólica | 27 |
| 1.2 | Justificativa | 28 |
| 2 | OBJETIVOS | 29 |
| 3 | REFERÊNCIAS | 29 |
| 4 | ARTIGO | 33 |
| | RESUMO | 34 |
| | ABSTRACT | 36 |
| 4.1 | Introdução | 38 |
| 4.2 | Materiais e Métodos | 40 |
| 4.3 | Resultados e Discussão | 42 |
| 4.4 | Conclusão | 46 |
| 4.5 | Referências | 47 |
| 5 | ANEXOS | 50 |
| | ANEXO A - CADASTRO SIGEN | 50 |
| | ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS – SÍNDROME METABÓLICA) | 51 |
| | ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE | 53 |
| | ANEXO D - Termo de Guarda de Material Biológico | 55 |
| | ANEXO E – Ficha de Identificação | 57 |

| | |
|--|-----------|
| ANEXO F - Mini Mental State Examination (MMSE)..... | 59 |
| ANEXO G - NORMAS DO PERIÓDICO..... | 62 |

RESUMO: Patologias as quais não possuem um agente infeccioso como fator desencadeante são ativamente influenciadas por estilo de vida e fatores genéticos. A população está exponencialmente sob o risco de desenvolvimento da síndrome metabólica (SM), originada pela associação de DCNTs que elevam a probabilidade de complicações cardiovasculares. Os Fatores plurimetabólicos estão presentes e são alvo de estudo nesse processo. As citocinas são glicoproteínas atuantes no sistema imunológico, mensageiras entre as células características do sistema. A interleucina-10 é uma citocina anti-inflamatória, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias e com isso a atenuação de processos inflamatórios, atuando como um fator protetor as DCNTs. Este estudo foi realizado a fim de verificar a frequência do polimorfismo no gene *IL10* - 819 C-T em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM), pacientes de uma Unidade Básica de Saúde do Distrito Federal e comparar o nível de expressão sérico da IL-10 conforme o genótipo - 819 *IL10*. A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-10 foram medidos por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). E os dados estatísticos gerados pela análise no software SPSS versão 23.0. O genótipo mais frequente foi o CT (n=151; 78,92%) seguido do CC (n = 22; 11,39%), possuindo a menor expressão da citocina IL-10 e TT como o menos frequente (n=20; 9,69). Indivíduos que não possuem a SM, são identificados com maior expressão da citocina de perfil anti-inflamatório.

Palavras-chaves: Interleucina 10. Síndrome Metabólica. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT: Pathologies that do not have an infectious agent as a triggering factor are actively influenced by lifestyle and genetic factors. The population is exponentially at risk of developing metabolic syndrome (MS), originated by the association of NCDs that increase the likelihood of cardiovascular complications. Plurimetabolic factors are present and are the target of study in this process. Cytokines are glycoproteins active in the immune system, messengers between the characteristic cells of the system. Interleukin-10 is an anti-inflammatory cytokine, inhibiting the synthesis of pro-inflammatory cytokines and thereby attenuating inflammatory processes, acting as a protective factor against NCDs. This study was carried out in order to verify the frequency of polymorphism in the *IL10* - 819 CT gene in a population sample of elderly Brazilian individuals with Metabolic Syndrome (MS), patients from a Basic Health Unit in the Federal District and to compare the level of serum expression of IL-10 according to the genotype - 819 *IL10*. Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum levels of IL-10 were measured using an enzyme immunoassay kit (ELISA). And the statistical data generated by the analysis in the SPSS software version 23.0. The most frequent genotype was CT (n = 151; 78.92%) followed by CC (n = 22; 11.39%), with the least expression of the cytokine IL-10 and TT as the least frequent (n = 20; 9.69). Individuals who do not have MS are identified with greater expression of the cytokine with an anti-inflammatory profile.

Keywords: Interleukin 10. Metabolic Syndrome. Genetic polymorphism.

Lista de tabelas

Tabela 1: Critérios da Organização Mundial da Saúde, *Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults* e *International Diabetes Federation* para diagnóstico da síndrome metabólica.....**17**

Tabela 2 - Comparações por Método Pairwise de IL-10 -819 C/T.....**43**

INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é descrita no documento público I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica de 2005, definido como um transtorno complexo determinado a partir de fatores de riscos cardiovasculares abrangendo o acúmulo central de gordura e à resistência à insulina como pontos de destaque da síndrome (COSTA, DUARTE & ANDRADE, 2020; NEVES, et al. 2019). Dentre quais a hiperglicemia, obesidade visceral, dislipidemia, hipertensão, estado pró-inflamatório e pró-trombótico são citados como disfunções comuns que em conjunto podem levar ao desenvolvimento da síndrome (PRÉCOMA, et al. 2019).

A prevalência da síndrome é destacada por Costa; Duarte & Andrade, em um estudo realizado em 2020, onde o grupo de idosos apresentam maior frequência de indivíduos portadores e acrescenta que, maiores números de casos desfavoráveis cardiovasculares são observados em indivíduos deste grupo. De modo geral, portadores da síndrome possuem duas vezes mais risco de desenvolver doenças cardiovasculares (DCV) e cinco vezes mais de se tornarem portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2, vistos que demais grupos são susceptíveis a esse acometimento, não vetado apenas a idosos (COSTA; DUARTE & ANDRADE, 2020; PRÉCOMA, et al. 2019). Neste trabalho, revisamos a definição, a epidemiologia e os mecanismos fisiopatológicos postulados comumente atribuídos à SM.

1.1 Síndrome Metabólica

1.1.1 Conceituação

Júnior et al. (2020) apresentam a SM como um compilado de disfunções metabólicas no indivíduo classificadas basicamente como Doenças Crônicas Não Transmissíveis - DCNT, proporcionando um estado crônico inflamatório de baixo grau, que influenciam na homeostasia do sistema cardiovascular, oriundo da complexa interação entre fatores genéticos juntamente com os comportamentais. Os critérios de diagnóstico são divididos em dois grupos:

obrigatório e não obrigatório; onde de característica obrigatória analisada é obesidade visceral, seu diagnóstico utiliza da técnica de medição da circunferência abdominal, o resultado é comparado aos valores padronizados delineando uma faixa de normalidade. Ao buscar esse dado, alguns detalhes são padronizados previamente para que haja a garantia da veracidade da medida e reduzir os erros, assim como descrito no documento Diretrizes Brasileiras de Obesidade (2016).

A I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, publicada em 2005, orienta a correta coleta desse dado, onde a técnica foi atualizada e reforçada pela publicação Diretrizes Brasileira de Obesidade (2016), técnica essa tida através da medição no ponto médio entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca, no seu maior diâmetro, passando sobre os trocânteres maiores. Segundo Neves, et al. (2019) após obtenção do valor com a fita métrica, deve-se comparar o resultado com o valor preestabelecido. Padrão determinado que cita a faixa de normalidade da circunferência abdominal de acordo com estudos realizados com diferentes populações e etnias. Dentre elas: a população Sul-americana e Americana-central se enquadram na faixa de normalidade de circunferência abdominal os valores ≤ 90 cm para os homens e ≤ 80 cm para as mulheres, assim como os Sul-asiáticos e Chineses. Para os japoneses esse limiar se difere para a população feminina, centímetros são adicionados, resultando em uma circunferência ≤ 85 cm, e o masculino se mantém ao anterior descrito. Valores superiores a esses, configuram a obesidade visceral.

Ao se tratar de critérios não obrigatórios, onde deve-se ter associado pelo menos mais dois dos quatro critérios ao de caráter obrigatório para o diagnóstico da Síndrome Metabólica. Podemos pontuar como critérios: HDL (*high density lipoprotein* | lipoproteína de alta densidade) < 40 mg/dl para homens e < 50 mg/dl para mulheres; Triglicérides ≥ 90 mg/dl ou está em tratamento, sem distinção de sexo; Glicemia em jejum ≥ 100 mg/dl ou diagnóstico prévio de diabetes mellitus do tipo 2; e Pressão Arterial sistólica ≥ 130 mmHg e/ou Pressão Arterial diastólica ≥ 85 mmHg (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE, 2016; NEVES, et al. 2019).

1.1.2 Epidemiologia

Ao se analisar pontos de estudo de sociedades atuais, deve se levar em consideração que as características podem oscilar e contribuir para a presença e intensidade de fatores de risco, apontando causas como modificações socioeconômicas e culturais, influenciadas pela rápida urbanização e inclinação econômica, culturas, costumes e hábitos populacionais (FERREIRA; SZWARCOWALD & DAMACENA, 2019).

Nas últimas décadas, é notado na população brasileira evidências de mudanças na ingestão alimentar e na realização de prática física, influenciando diretamente na saúde populacional, argumento pontuado na Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia, por Précoma e Ramires (2019). Suas múltiplas disfunções metabólicas, características da condição, podem se originar por meio de diversos fatores preponderantes, um deles é o sobrepeso e a obesidade, decorrentes do aporte calórico inadequado e a ausência de atividade física, assim citados inicialmente neste parágrafo. Reflexo disso, a SM tem se elevado como importante problema de saúde pública. Em 1980, o Índice de Massa Corporal (IMC) masculino possuía uma média de $\geq 28,8 \text{ kg/m}^2$ e o feminino em torno de $\geq 29,8 \text{ kg/m}^2$. Aponta-se que, em 2014, 52,4% da população encontrava-se com sobrepeso, sendo que deste percentual, 17,9% eram classificados como obesos. Conforme dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), a incidência da população com sobrepeso evoluiu para 55,8% e 18,7% para a obesidade para homens a partir de 20 anos de idade e 53,9% de sobrepeso e 20,7% para obesidade para mulheres, também na mesma faixa etária (PRÉCOMA, et al. 2019).

Vale ressaltar, conforme estudos recentes, o Brasil está no quarto lugar de países com maior incidência de obesidade e adultos com sobrepeso (PRÉCOMA, et al. 2019). Estudos descritos por Vigitel (2018), reúnem dados de 27 cidades brasileiras, onde aponta que a frequência de sobrepeso foi de 55,7%, onde ao se classificar por sexo, a população masculina detém destaque com 57,8% desse número total e o feminino com 53,9%.

Além do excesso de peso, Ochioni (2016) apontou que outros indicadores são apresentados como fatores de risco para doenças crônicas. Dos sujeitos da pesquisa base do estudo, é exemplificado que 20% apresentaram colesterol alto.

Na tentativa de formar uma visão geral da condição estudada, aponta-se que a SM possui ampla contribuição para identificação precoce de eventos cardiovasculares, tendo em vista a sua ligação com fatores de risco. Não é uma doença específica, mas sim uma junção de diversos fatores metabólicos, como: hipertensão, triglicerídeos elevados, obesidade abdominal, intolerância à glicose e HDL baixo. Ainda é pouco claro a existência da SM para a população em geral. Um outro fator exposto pelo conjunto de estudos atuais, é que a não associação das consequências posteriores da privação de sono, rotina frequente na população moderna, a função endócrina também pode ser alterada em razão da qualidade e a duração do sono (CARVALHO, 2016).

O primeiro estudo que utilizou uma amostra significativa da população brasileira, foi nomeado pelo Estudo dos Riscos Cardiovasculares em Adolescentes (ERICA), em 2016, com exploração de dados importantes acerca da prevalência da SM. Objetivo esse a prevalência de fatores de risco de ordem cardiovascular em adolescentes de 12 a 17 anos, amostra cujo o número significativo de 37.504 adolescentes, entre o período de 2008 a 2009, abrangendo 27 municípios de capitais brasileiras (MAGALHÃES et al. 2018).

Os autores do estudo supracitado identificaram que, dentre os 27 municípios, as capitais brasileiras: Belém (3,8% [IC95% 2,7-5,2]) lidera sendo a capital com maior prevalência de SM, enquanto que Macapá ocupa o último lugar no estudo com 0,9% [IC95% 0,3-2,7]. Outro ponto relevante tratado foi a divisão por tipo de educação fornecida e sexo. Cujos números obtidos de prevalência da SM na escola pública, relativa a uma taxa de 2,8% (IC95% 2,4-3,2), ao realizar uma segunda divisão, se têm adolescentes do sexo masculino com foi 3,1% (IC95% 2,5-3,7) de prevalência, e no sexo feminino foi de 2,6% (IC95% 2,0-3,3), e nas escolas privadas, um número menor foi encontrado em comparação a escola pública (1,9% (IC95% 1,4-2,4)), o que leva uma série de análises e possíveis causas dessa redução, sendo que a prevalência se manteve menor tanto em adolescentes do sexo masculino (2,5% [IC95% 1,9-3,3]), quanto do sexo feminino (1,3% [IC95% 0,9-1,9]) (MAGALHÃES et al. 2018).

Magalhães e colaboradores (2018), trazem uma análise a prevalência de SM, levando em consideração o estado nutricional, quanto as regiões brasileiras: Norte; Nordeste e Sudeste; cujo apresenta o valor de 0,1%, sendo que, encontra se menor quanto a análise em relação as regiões: Sul e Centro-Oeste; apontadas no periódico.

1.1.3 Diagnóstico clínico e avaliação laboratorial

Apesar de existir várias definições para SM, os critérios para o diagnóstico da Síndrome já foram pontos de estudo para diversas organizações, tais como:

Organização Mundial de Saúde (OMS), Grupo Europeu para o Estudo da Resistência a Insulina (EGIR), a *International Diabetes Federation* (IDF), o *National Cholesterol Education Program Third Adult Treatment Panel* (NCEP – ATP III) e a Associação Americana da Diabetes (ADA), não têm sido coincidentes. A principal diferença entre o IDF e o NCEP – ATP III está no valor limite do perímetro abdominal (CARVALHO, 2016).

O diagnóstico da SM está baseado nos critérios analisados para obtenção de diagnóstico, com aspectos clínicos e laboratoriais inclusos, conforme apresentado pela tabela 1, onde a mesma compara entre seus pontos de comparação das diferentes organizações: Organização Mundial da Saúde (OMS); Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (NCEP-ATP); e International Diabetes Federation (IDF).

Tabela 1: Critérios da Organização Mundial da Saúde, *Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults* e *International Diabetes Federation* para diagnóstico da síndrome metabólica.

| Entidades | | |
|-----------|---------------------|------------|
| OMS | NCEP-ATP III (2001) | IDF (2006) |

| | | | |
|---------------------------------|--|--|--|
| SM diagnosticada segundo | resistência insulínica e a presença de mais dois fatores | presença de três fatores | circunferência abdominal alterada e presença de mais dois fatores |
| Obesidade | RCQ >0,9 em homens e >0,85 em mulheres e/ou IMC >30 kg/m ² | Cintura abdominal >102 cm em homens e >88 cm em mulheres | Cintura abdominal >94 cm em homens europeus, >90 cm em homens asiáticos >80 cm em mulheres |
| Glicose plasmática | Diabetes, intolerância glicídica ou resistência insulínica comprovada pelo clamp | ≥110 mg/dL | ≥100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes |
| Triglicerídeos | ≥150 mg/dL | ≥150 mg/dL | ≥150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia |
| HDL | <35 mg/dL em homens e <39 mg/dL em mulheres | <40 mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres | <40 mg/dL em homens ou <50 mg/dL em mulheres ou tratamento para dislipidemia |
| Pressão Arterial | PAS ≥140 mmHg ou PAD ≥90 mmHg, ou tratamento para HAS | PAS ≥130 mmHg ou PAD ≥85 mmHg | PAS ≥130 mmHg ou PAD ≥85 mmHg ou tratamento para HAS |
| Outros | Excreção urinária de albumina: ≥20 mcg ou relação albumina/creatinina: ≥30 mg/g | | |

Fonte: Azambuja CR. et al 2015 – adaptado

Para que seja considerado o diagnóstico de SM, Lima (2017) aponta os critérios reformulados e publicados pela *International Diabets Federation* (IDF), ideia da qual é a mais aceita e popular entre os profissionais e críticos da área. Seus dados melhorados, a partir do estudo com diferentes etnias e através das evoluções de publicações desde a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, acrescentada da Sociedade Brasileira de Cardiologia, que previamente utilizou como base os critérios descritos pela *National Cholesterol Education Program* (NCEP), em conjunto com *Adult Treatment Panel III* (ATP III).

Júnior et al. (2020) e Magalhães et al., (2018) concordam que a quantidade de gordura visceral é proporcional a sua contribuição à síndrome. No estudo de Júnior et al. (2020) a mesma é classificada como condição obrigatória no processo de diagnóstico. Magalhães et al. (2018) já acrescenta, a associação da resistência à insulina, defendendo que ambas possuem maior cooperação as implicações na patogênese, mesmo que a participação de cada um dos componentes definidos pela IDF, ainda não estejam bem esclarecidos.

No diagnóstico de SM como identificado na tabela 1, a gordura visceral, de acordo com o IDF, deve ser acompanhada por mais dois dos quatro fatores classificados como não obrigatórios por Júnior et al. (2020), são eles: HDL - <40 mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres (ou em tratamento específico); taxa de triglicérides - ≥ 150 mg/dL (ou em tratamento específico); PA elevada - $\geq 130/85$ mmHg (ou em tratamento medicamentoso); glicemia de jejum elevada - ≥ 100 mg/dL (ou diagnóstico de DM2). Dentre as atualizações sobre diagnóstico ou associações entre os critérios condicionados não há discrepância de comparação e resultado entre as publicações.

1.1.4 Patogênese

Os autores Braga, Carneiro e Silva (2018) apontam o desconhecimento da etiologia da mesma, mas mostra a probabilidade de sua originalidade ser construída a partir de fatores genéticos, metabólicos e ambientais. Carvalho (2016), já citava que o sedentarismo, idade avançada, estresse emocional, modificações hormonais, são alguns dos fatores, além dos determinantes genéticos, desencadeada na presença do conjunto de fatores que elevam a deposição de gordura abdominal. Conforme abordado nos estudos, Carvalho (2016) e Magalhães et al. (2018) observam a classe socioeconômica dos indivíduos, e concluem que indivíduos de classes socioeconômicas mais baixas possuem maior frequência em apresentar a condição.

Ao relacionar os fatores citados no estudo dos autores Braga, Carneiro e Silva (2018) com a relação nutricional tratada por Fernandes et al. (2017) como item de discussão, cuja finalidade é descrever a associação da alimentação com a SM. Ao observar o indivíduo que alimenta-se de elevadas quantias de gorduras

saturadas e trans, açúcares e alimentos refinados, ricos em carboidratos simples e pobre em fibras, são identificados alterações na composição corporal, dentre eles principalmente o aumento no armazenamento de gordura na região abdominal, contribuindo com o possível favorecimento do risco de desenvolvimento da Síndrome Metabólica.

A resistência à insulina citada por Magalhães et al. (2018) e explicada por Martínez et al. (2019), como condição ocasionada pela lipotoxicidade, decorrente da liberação de ácidos graxos pelos adipócitos, gerando uma resposta inflamatória e protrombótica crônica. Embora não esteja incluída entre os critérios, é inevitável discutir síndrome metabólica sem considerar a sua importância no processo de instalação da síndrome.

Com o aumento do percentual de gordura visceral, alterações na via de metabolização de carboidrato é prejudicada devido a instalação da resistência à insulina, desenvolvida pelo breve mecanismo citado anteriormente por Martínez et al. (2019). Segundo Bronzati et al. (2019) a redução da resposta esperada pela insulina, contribuindo para uma hiperglicemia, levando a uma maior produção de insulina como tentativa de normalizar os níveis glicêmicos, podendo evoluir para diabetes do tipo 2. O autor também menciona as alterações no metabolismo de lipídios, associando a causa ao surgimento de dislipidemias. Em casos como em indivíduos não obesos, fatores genéticos podem explicar a resistência à insulina, possivelmente indivíduos que possuem familiares diabéticos (SRINIVASAN et al. 2016).

Barroso et al. (2017) e Wannmacher (2016) explicam que o tecido adiposo recebe a influência de diversos sinais e apresenta resposta mediante a esses sinais químicos, dentre eles as moléculas de cortisol, insulina, e catecolaminas, resultando na excreção de substâncias como: a leptina, adiponectina, Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), entre outras. Processo esse importante no desenvolvimento da resistência à insulina, sendo a gordura visceral, o tecido identificado pelos autores como o de maior participação neste processo.

Wannmacher (2016) aponta que o acúmulo de gordura na região abdominal é um indicador para possíveis problemas cardiovasculares futuros, porém não está claramente compreendido os mecanismos envolvidos. Barroso et al. (2017) expõe que quanto maior o volume de tecido adiposo visceral, maior a quantidade liberada de ácidos graxos livres na corrente sanguínea,

provenientes da lipólise desse tecido. Estudos atuais demonstram que as concentrações elevadas dessas moléculas de lipídeos auxiliam diretamente na origem da resistência tecidual à ação insulínica. Observados tanto a nível hepático como periférico.

Os ácidos graxos livres circulantes em altas concentrações plasmáticas expõem órgãos a sobrecarga. O fígado, por exemplo, é um órgão que está exposto a essa sobrecarga, reduzindo sua capacidade de remoção de insulina circulante e levando a um estado de hiperinsulinemia sistêmica. A adipocitocinas secretadas pelo tecido adiposo é um outro mecanismo proposto contribuinte dessa resistência, com a hipertrofia e/ou hiperplasia dos adipócitos resultam na redução da sensibilidade à insulina (BARROSO et al. 2017).

No entanto, a aferição da resistência à insulina não constitui prática clínica habitual, especialmente para os mais jovens (ZIMMET et al. 2017). A circunferência da cintura tem sido mais fortemente correlacionada com o tecido adiposo visceral e com a resistência à insulina do que o IMC em adultos e em crianças e adolescentes (BRAMBILLA et al. 2016).

Brunzell (2017) cita a clara associação de concentrações elevadas de triglicerídeos com doenças cardiovasculares. Ao abordar sobre a hipertrigliceridemia, o autor expõe a presença de moléculas, como: o colesterol LDL, aterogênicas devido sua densidade elevada diferente do colesterol HDL, que possui moléculas maiores, porém menos densas. A doença coronariana prematura é um exemplo a citar-se, ocasionada por obstrução de veias e/ou artérias, onde a deposição de moléculas de LDL-c (pequenas e densas) juntamente com um processo inflamatório favorece a obstrução da corrente sanguínea, por meio do surgimento das placas de ateromas (BRUNZELL, 2017).

Na síndrome metabólica, é evidente aumento da concentração de ácidos graxos livres, dos quais são utilizados como substrato para produção hepática de colesterol VLDL, lipoproteínas ricas em triglicerídeos, contribuindo na condição de hipertrigliceridemia. Além disso, no metabolismo lipídico a VLDL resulta em partículas que possuem estrutura pequena e densa, nomeada de LDL, responsáveis em alta concentração na formação de placas de ateroma (DESPRÉS et al. 2018).

Boes et al. (2019) expressa em seu estudo que níveis reduzidos de HDL, são fortemente correlacionados com doenças cardiovasculares prematuras e

apresentam forte determinação genética, com estimativas de herdabilidade que podem alcançar até 80%. A hipoalfalipoproteinemia familiar, sem causa secundária, é a forma mais comum de baixa concentração de HDL, identificada em indivíduos com IMC na faixa de normalidade intensificando a associação genética (BOES, et al. 2019)

Esta condição pode exemplificar as influências genéticas da síndrome. Proveniente de mutações em genes estruturais ou ainda devido ao catabolismo acelerado da partícula de HDL (KLOS; KULLO, 2017). No entanto, ao se tratar de fatores inerentes ao estilo de vida, dos quais se destacam: inatividade física, dieta, tabagismo e doenças hepáticas de origem alcoólica; determinam a maioria dos casos de concentrações reduzidas de HDL. No contexto da síndrome metabólica, no acúmulo de gordura visceral observa-se a redução de HDL. (RASHID; GENEST, 2017).

Bitzur et al. (2019) expõe a relevância da manutenção de concentrações adequadas de HDL, atribuindo à molécula seus efeitos cardioprotetores. Efeitos atribuídos devido suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, desempenhando importância na manutenção das taxas de LDL, por meio da inibição da sua oxidação e da sua adesão celular, contribuindo na redução do risco de trombose pela inibição da agregação plaquetária (BITZUR, et al. 2019).

O perfil lipídico de indivíduos obesos pode apresentar frequente baixas concentrações do HDL, independente da concentração de triglicerídeos normais, o que sugere que outros mecanismos estão associados a redução da concentração desta molécula (BOES, et al. 2019; MOORADIAN et al. 2017). Mooradian et al. (2017) acrescenta que concentrações elevadas de citocinas inflamatórias têm sido outro mecanismo associado a causa da redução de HDL em indivíduos obesos de perfil lipídico com níveis séricos de triglicerídeos normais.

Sendo assim, a prevalência da síndrome metabólica, além de aumentar com o avanço da idade, com a predisposição genética, sedentarismo juntamente com hábitos alimentares, fatores que podem influenciar o desenvolvimento da SM e de seus componentes; em paralelo observa-se o aumento da concentração de gordura visceral (GÜNDOGAN et al. 2019).

Tratando de estratégias de reversão da condição, a dieta e a atividade física, considerados fortes determinantes do peso corporal, podem contribuir

para o tratamento e prevenção da obesidade e, conseqüentemente, de cada um dos componentes da síndrome. Embora ainda exista um longo caminho a percorrer para consolidação de estratégias, diversas pesquisas buscam estabelecer associações entre fatores dietéticos e a síndrome metabólica (STEEMBURGO et al. 2017).

1.1.4.1 Marcadores inflamatórios

A obesidade, a resistência insulínica e a DM2 constituem um estado pró-inflamatório crônico que, por sua vez, agrega a um maior risco cardiovascular. A alteração da concentração de adipocinas no plasma sanguíneo é um sinal de disfunção do tecido adiposo, uma das conseqüências observadas na obesidade, acarretando em risco aumentado de DM2, de esteatose hepática e de doenças cardiovasculares (TÖNJES et al. 2016).

O tecido adiposo produz adipocinas anti-inflamatórias, dentre elas De Oliveira et al. (2020) cita em seu estudo a Interleucina 10 (IL-10) e a Adiponectina (AdipoQ), associando a sua capacidade de inibição da síntese de adipocinas pró-inflamatórias, observadas em células do sistema imunológico, linfócitos T e macrófagos, ocasionando o processo de inibição da síntese dos seguintes intermediadores inflamatórios: Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6) e Interleucina 8 (IL-8) em monócitos. Já a AdipoQ nesse processo contribui com a sensibilidade à insulina e também a ação anti-inflamatória.

A produção de adipocinas anti-inflamatórias promovem a redução dos níveis séricos de IL-6 e o TNF- α , intermediadores esses inflamatórios, auxiliando para a homeostasia da glicose e de lipídeos no indivíduo recém alimentado (DE OLIVEIRA, et al. 2020).

Aparenta ser contraditório a prescrição da atividade física aos portadores de SM, devido as lesões ao tecido muscular ocasionadas pelo exercício serem um fator de ativação das vias de sinalização pró-inflamatórias. Levando alguns profissionais da saúde optar pela privação do exercício físico indivíduos portadores de DCNT (DE OLIVEIRA, et al. 2020).

No entanto, Pedersen e Petersen (2018) argumentam em seu estudo que as citocinas pró-inflamatórias clássicas (TNF- α e IL-1 β) normalmente não aumentam com o exercício, o que sugere que a cascata de citocinas desencadeada pelo mesmo seja diferente daquela induzida por doenças inflamatórias. Gerando respaldo na prescrição da atividade física como estratégia não medicamentosa de tratamento. Além disso, a capacidade de aumentar o consumo de glicose sérica e de inibir os efeitos do TNF- α e a produção da IL-1, feitos responsáveis pelo aumento da IL-6 circulante, oriundos da atividade física.

Não obstante, níveis constantemente elevados de IL-6 inibem a ação da insulina. Por possuir caráter pró e anti-inflamatório, a IL-6 possui papel controverso relacionado à resistência insulínica. As informações sobre os efeitos do Treinamento Resistido sobre as concentrações de TNF- α são escassas e controversas (NIETO-VASQUEZ et al. 2018). Segundo Stensvold et al. (2016) aponta a relação do aumento de TNF- α pode ter relação com a dor muscular de início tardio, informação obtida através de estudo onde amostras de sangue foram coletadas em intervalos distintos durante 48 horas após a sessão de treino, apresentando um pico de concentração entre 24 e 72 horas.

Ainda em relação aos marcadores inflamatórios, em recente revisão sobre o tema, Clark (2016) chama a atenção para tamanhos de efeito próximos de zero para as alterações de adiponectina, TNF- α , Proteína C-Reativa (CRP) e aleptina, quando comparados os efeitos da dieta isoladamente e do tratamento combinado (dieta mais exercício) em adultos obesos.

Nesse sentido, parece que, para que haja efeito sobre a inflamação, a intervenção realizada deve ser capaz de promover perda de peso corporal. Mais uma vez, ao que tudo indica, o controle alimentar dos indivíduos em conjunto com o programa de treinamento mostra-se de suma importância no controle de parâmetros pró-inflamatórios (CLARK, 2016; GÜNDOGAN et al. 2019).

1.1.5 Interleucina 10 (IL-10)

A interleucina-10 (IL-10), é definida por De Oliveira (2020) como uma estrutura polipeptídica reguladora produzida tanto pela resposta imunológica

inata quanto pela adaptativa e que é capaz inibir as citocinas das respostas Th1 e Th2 e uma variedade de mecanismos imunes. Os genes que promovem a caracterização e expressão de citocinas formam grupo de estudo, onde suas viabilidades e variação são expostas e analisadas (DE OLIVEIRA, 2020).

A IL-10, precocemente descrita como molécula de produção exclusiva por células Th2, atualizada como importante citocina anti-inflamatória e imunossupressora produzida por um número maior de células do sistema imune, diferente da singularidade previamente defendida. Sabe-se que sua produção está associada por outras células T, como as T reguladoras, as células T CD8+, células B, células dendríticas e além de macrófagos (FILLARREAU et al. 2016; REYNARD et al. 2017).

A função reguladora da IL-10 tem sido bem documentada em modelos animais, exemplificado por Fillarreau et al. (2016) no estudo envolvendo camundongos com deleção no gene da *IL10*, ao serem infectados com um parasita da malária apresentaram uma resposta prejudicial ao hospedeiro durante a evolução da patologia.

Murray et al. (2017) cita a contribuição da IL-10 no desenvolvimento de doenças infecciosas, interferindo na resposta de células como macrófagos durante infecções por micobactérias, o que assimila a gravidade de uma infecção com níveis séricos de IL-10, sendo que, níveis elevados de IL-10 foram observados em pacientes com um mau prognóstico de meningite meningocócica, enquanto que os pacientes que tinham doença leve apresentaram baixos níveis IL-10 (REYNARD et al. 2017).

1.1.6 Polimorfismo no gene *IL10* C>T - 819 (RefSeq: NM_012854.2)

Os polimorfismos genéticos podem ser definidos como variações genéticas observadas acima de 1% da população, em caso de menor frequência denomina-se mutação (DE BRITTO COSTA, 2017). Essa variabilidade de informação genética pode acarretar em diferentes níveis de expressão de citocinas, interferindo na intensidade de resposta imune associada a suas particularidades (DE OLIVEIRA, 2020).

O gene *IL10* está localizado no cromossomo 1, em 1q31-32 e sua região promotora é alvo de estudos devido ser rica em regiões polimórficas de microssatélite e SNPs, que formam vários haplótipos que estão associados com níveis diferentes da citocina IL-10. O RefSeq do gene *IL10* é o de sequência: NM_012854.2 (PEIXOTO, 2018).

Os mais estudados são os microssatélites e polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Os polimorfismos de nucleotídeo único são substituições bialélicas de ponto, por exemplo: G>A; C>T; e C>A; que acontecem em uma determinada sequência de DNA. Como resultado, os SNPs podem alterar a afinidade de ligação para fatores de transcrição na região promotora de citocina (MORAES et al. 2016). Os polimorfismos microssatélites são definidos como:

Fragmentos de DNA que consistem em unidades repetidas, podendo ser de dois a quatro nucleotídeos. Vários métodos baseados na técnica de PCR, sigla originada do termo Polymerase Chain Reaction, foram desenvolvidos e para detecção destes polimorfismos em estudos recentes, como a: metodologia RFLP (restriction fragment length polymorphism), que emprega enzimas de restrição à técnica; o método SSOP (sequence-specific oligonucleotide probes), que permite à amplificação do gene e a hibridização de alelos específicos com sondas marcadas; e a técnica de SSP (sequence-specific primers), a qual faz uso de primers específicos, cujo sua sequência é conhecida a fim de identificar amostras que possuem nucleotídeos de alelo polimórfico (REYNARD et al. 2017).

Aproximadamente 75% da variação na produção da IL-10 é geneticamente determinada, afirmação essa originada a partir de estudos científicos com indivíduos pertencentes à mesma família. Estudos esses que fortalecem a proposta de Kimball et al. (2018) ao afirmar diferenças significativas na capacidade de síntese de IL-10 após estimulação de sangue total com a técnica traduzida para o português como Estudo de Tolerância de Lipopolissacarídeos (LPS) em culturas in vitro.

Polimorfismos dentro da região promotora do gene *IL10* foram descritos como funcionais, nas regiões promotoras -1082, -819 e -592, designados a partir do sítio de início da transcrição (+1) (EDER et al. 2017; KIMBALL et al. 2018; PAWLIK et al. 2015; PERSICO et al. 2016).

Com relação aos três polimorfismos bialélicos que foram identificados na região promotora -1082 (G>A), -819 (C>T) e -592 (C>A) ocorre desequilíbrio de

ligação entre os SNPs -819 e - 592 e somente três de oito possíveis haplótipos (GCC, GCA, GTC, GTA, ACC, ACA, ATC e ATA) foram encontrados em populações caucasóides: GCC, ACC e ATA. Os genótipos - 1082: GG, GA e AA, correspondem aos fenótipos alto, intermediário e baixo produtor da citocina IL10, independente das variações nucleotídicas presentes nas posições -819 e -592 do gene *IL10* (EDER et al. 2017; PAWLIK et al. 2015; PERSICO et al. 2016).

1.1.7 Interleucina 10 polimórfica (IL-10) e a síndrome metabólica

O tecido adiposo, possui um papel crucial na regulação de armazenamento e distribuição de ácidos graxos. Mecanismo esse que consta basicamente como fonte de abastecimento à alimentação hiperlipídica, nesses períodos de superávit calórico, os ácidos graxos livres são armazenados na forma de triacilglicerol através da sua esterificação com glicerol, contribuindo para a formação de novas células adiposas e, em tempos de déficit calórico, estes são liberados de volta para a circulação (DE SOUSA AVELINO et al., 2019).

Sabe-se hoje que o tecido adiposo é secretor devido a descoberta da leptina, que atua como hormônio regulador do balanço energético, e TNF- α basicamente definida como regulador negativo do efeito proporcionado pela insulina. O tecido não se limita apenas a capacidade da contenção ou liberação das moléculas de gordura, é citada a comunicação com o sistema nervoso central e o trato gastrointestinal, meio utilizado para auxílio na resposta inflamatória nas seguintes condições: autócrinas, parácrinas e/ou endócrinas (DE SOUSA AVELINO et al. 2019; HEBER, 2016).

Speretta et al. (2014) descrevem a ação anti-inflamatória no sistema nervoso central que a IL-10 exerce. O experimento realizado no estudo para propor tal afirmação, realizou a infusão de IL-10 diretamente no hipotálamo de ratos obesos, confirmando a inibição da ação inflamatória do IKK quinase subunidade B/ Fator nuclear – KB (IKKb/NF-KB) na região, onde notou-se uma maior sensibilização à ação da leptina e da insulina nos neurônios dessa região,

ocasionando uma ingesta calórica reduzida levando o controle do balanço energético.

Tönjes et al. (2016) e Speretta et al. (2014) associam a contribuição da IL-10 no acúmulo ou não de gordura na região visceral. Na sua escassez é aumentado o risco de desenvolver um estado pró-inflamatório crônico é que, por sua vez, torna vulnerável a instalação de DCNT contribuindo para a evolução da SM.

A alteração da concentração de adipocinas no plasma sanguíneo, é observada como uma disfunção do tecido adiposo, acarretando em risco aumentado de DM2, de esteatose hepática e de doenças cardiovasculares (TÖNJES et al. 2016).

Ao assimilar o polimorfismo em sua capacidade de modular a liberação de citocinas específicas, ponto esse de importância que ao tratar-se dos mecanismos observados e discutidos até aqui, contribui na modulação do acúmulo de gordura visceral, critério esse que compõe a base dos demais critérios necessários para instalação da SM. Visto que, fatores genéticos possuem importância no contexto de prognóstico da condição, ressaltando sua relevância de estudo e desenvolvimento de estratégias de tratamento e prevenção (MORAES et al. 2016; SPERETTA et al. 2014; TÖNJES et al. 2016).

1.2 Justificativa

Cada vez mais as DCNTs se tornam um dos principais sinais de alerta no século 21, o alto número de portadores dessas patologias, seus efeitos e reflexos fragilizam a saúde populacional em um contexto complexo envolvendo produtividade e qualidade de vida.

A elevada incidência citada por Précoma et al. (2019) de acometimento pela SM remete interesses à investigação de fatores de risco que podem determinar o desenvolvimento da síndrome. Ao pontuar o sistema imunológico como agente importante na gênese da síndrome, leva-se em consideração que aproximadamente 75% da variação na produção da IL-10 é geneticamente determinada, fundamentado por estudos científicos com indivíduos pertencentes à mesma família (KIMBALL, et al. 2018). A sua baixa concentração é observada

como fator de risco ao desenvolvimento de DCNTs, e polimorfismos estão associados a alta/baixa secreção como o *IL10* -819 C>T, contribuindo para a suscetibilidade da SM.

2. Objetivos

Para melhor compreensão da associação das doenças crônicas não transmissíveis com a síndrome metabólica e a variação do fator polimórfico acrescido, o objetivo geral deste estudo:

- a) Verificar a frequência do polimorfismo *IL10* -819 C>T (RefSeq: NM_012854.2) em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com síndrome metabólica.
- b) Comparar o nível de expressão sérico da IL-10 conforme o genótipo *IL10* -819 C>T

Os objetivos específicos incluem:

- a) Realizar levantamento bibliográfico sobre polimorfismo *IL10* -819 C>T.
- b) Padronizar e executar as estratégias de biologia molecular (PCR e digestão enzimática) para estudo da frequência do polimorfismo *IL10*-819 C>T em indivíduos idosos com Síndrome Metabólica.
- c) Investigar a possível associação entre o polimorfismo *IL10* -819 C>T com diferentes manifestações clínicas e o prognóstico de pacientes com SM.

3. Referências

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Diretrizes brasileiras de obesidade**. ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. – 4.ed. - São Paulo, SP. 2016.

AZAMBUJA, C R *et al.* O Diagnóstico da síndrome metabólica analisado sob diferentes critérios de definição. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 482, 2015

BARROSO, T A *et al.* Associação entre a obesidade central e a incidência de doenças e fatores de risco cardiovascular. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 30, n. 5, p. 416-424, 2017.

- BITZUR, R *et al.* Triglycerides and HDL cholesterol. Stars or second leads in diabetes? *Diabetes Care*, United States, v. 32, suppl. 2, p. 373-377, Nov. 2019.
- BOES, E *et al.* Genetic epidemiological evidence on genes associated with HDL cholesterol levels: A systematic in-depth review. *Experimental Gerontology*, England, v. 44, n. 3, p. 136-160, Mar. 2019.
- BRAGA, F L M; CARNEIRO, R M; SILVA, M D P. Síndrome metabólica em pacientes hipertensos atendidos ambulatorialmente em um hospital de ensino. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, n. 4, v.2, 2018.
- BRONZATI, L *et al.* SÍNDROME METABÓLICA ASSOCIADA AO HIPOGONADISMO, RESISTÊNCIA INSULÍNICA, DISLIPIDEMIA E DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D-RELATO DE CASO. **REVISTA UNINGÁ**, v. 56, n. 4, p. 38-43, 2019.
- BRUNZELL, J D. Hypertriglyceridemia. *The New England Journal of Medicine*, United States, v. 357, n. 10, p. 1009-1017, Sep. 2017.
- CARVALHO, M H C *et al.* I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. 2005.
- CARVALHO, C T. Síndrome metabólica em uma fábrica de papel no Estado do Paraná. *Rev Bras Med Trab.* 14(3):222-6, 2016.
- CLARK, J E. Diet, exercise or diet with exercise: comparing the effectiveness of treatment options for weight-loss and changes in fitness for adults (18-65 years old) who are overfat, or obese: systematic review and meta-analysis. *Journal of diabetes and metabolic disorders*, n. 2, v. 7, p.14-31, 2016.
- COSTA, A C O; DUARTE, Y A O; ANDRADE, F B. Síndrome metabólica: inatividade física e desigualdades socioeconômicas entre idosos brasileiros não institucionalizados. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, p. e200046, 2020.
- DE BRITTO COSTA, P. Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos em escolares. Universidade Federal de Pelotas 2017
- DE OLIVEIRA, C B C *et al.* Obesidade: inflamação e compostos bioativos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2020.
- DE SOUSA AVELINO, L L *et al.* EFEITOS DAS DIETAS REGIONAL BÁSICA E HIPERLIPIDÊMICA NA INFLAMAÇÃO DO HIPOCAMPO EM CAMUNDONGOS C57BL6J. 2019.
- EDER, T *et al.* Interleukin-10 [ATA] promoter haplotype and prostate cancer risk: a population-
- FERNANDES, M *et al.* Perfil de consumo de nutrientes antioxidantes em pacientes com síndrome metabólica. *Revista de Ciências Médicas*, Campinas, n. 8, v. 9, julho/dezembro, 2017
- FERREIRA, A P S; SZWARCOWALD, C L; DAMACENA, G N. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. e190024, 2019.
- GÜNDOGAN, K. *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in the mediterranean region of Turkey: evaluation of hypertension, diabetes mellitus, obesity, and dyslipidemia. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, v. 7, n. 5, p. 427-434, Oct. 2019. .
- HEBER, D. An integrative view of obesity. *Am J Clin Nutr.* 91(1):280S-3S, 2016.
- JÚNIOR, R J M *et al.* Síndrome Metabólica e sua associação com fatores de risco cardiovascular em professores. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 14, n. 86, p. 467-476, 2020.
- KIMBALL, P *et al.* Ethnicity and cytokine production gauge response of patients with hepatitis C to interferon-alpha therapy. *J Med Virol.* 65(3):510-6, 2018.

KLOS, K L E; KULLO I J Genetic determinants of HDL: monogenic disorders and contributions to variation. *Current Opinion in Cardiology, United States*, v. 22, p. 344-351, 2017.

LIMA, J M C. Uma abordagem da Síndrome Metabólica com ênfase na resistência a insulina e seu diagnóstico: revisão de literatura. 2017. 43f. Monografia (Pós-graduação em Farmácia) – Faculdade Maria Milza. Governador Mangabeira, 2017.

MAGALHÃES, H J C *et al.* Manual de prevenção da Síndrome Metabólica. 1. ed. São Luís, 2018.

MARTÍNEZ, G *et al.* Síndrome metabólico. Bases clínicas y fisiopatológicas para un enfoque terapéutico racional. *Revista Médica de Chile, Santiago*, v. 137, n. 5, p. 685-694, May 2019.

MOORADIAN, A D *et al.* Low serum high-density lipoprotein cholesterol in obese subjects with normal serum triglycerides: the role of insulin resistance and inflammatory cytokines. *Diabetes, Obesity and Metabolism, England*, v. 9, n. 3, p. 441-443, May 2017.

MORAES, M O *et al.* Genetics of host response in leprosy. *Lepr. Rev.* v. 77, n. 33, p.189-202, 2016.

MURRAY, P J *et al.* T cell derived IL-10 antagonizes macrophage function in mycobacterial infection. *J. Immunol.* n. 158, v. 1, p.315–321, 2017.

NEVES, C V B *et al.* Associação entre síndrome metabólica e marcadores inflamatórios em idosos residentes na comunidade. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, p. e00129918, 2019.

NIETO-VAZQUEZ, I.; FERNÁNDEZ-VELEDO, S.; ALVARO, C.; LORENZO, M. Dual Role of Interleukin-6 in Regulating Insulin Sensitivity in Murine Skeletal Muscle. *Diabetes*, 57(12):3211-21, 2018.

OCHIONI, A C. Análises de Polimorfismos dos genes de mediadores inflamatórios envolvidos na obesidade. 2016. 133f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2016.

OMS (BRASIL). ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; GOULART, Flavio. Doenças crônicas não transmissíveis: estratégias de controle e desafios e para os sistemas de saúde. In: **doenças crônicas não transmissíveis: estratégias de controle e desafios e para os sistemas de saúde**. Brasília, Brasil: [s. n.], 2011. Cap p. 73-95.

PAWLIK, A. Interleukin10 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 24(5):480-4, 2015.

PEIXOTO, P H R. Análise do polimorfismo no gene IL10 em pacientes portadores de câncer de tireóide. 2018.

PERSICO, M. Interleukin-10 - 1082 GG polymorphism influences the occurrence and the clinical characteristics of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 45(6):779-85, 2016.

PETERSEN, A M.; PEDERSEN, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of applied physiology* (1985). Apr, 98(4):1154-62, 2018.

PRÉCOMA, D B *et al.* Atualização da diretriz de prevenção cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia-2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 4, p. 787-891, 2019.

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

RASHID, S.; GENEST, J. Effect of obesity on high-density lipoprotein metabolism. *Obesity, United States*, v. 15, n. 12, p. 2875-2888, Dec. 2017.

REYNARD, M P *et al.* Allele frequencies of polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha, interleukin- 10, interferon-gamma and interleukin-2 genes in a North European Caucasoid group from the UK. *Eur. J. Immunogenet.* v. 27, n.4, p. 241-249, 2017.

- JÚNIOR, R J M *et al.* Síndrome Metabólica e sua associação com fatores de risco cardiovascular em professores. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 14, n. 86, p. 467-476, 2020.
- SPERETTA, G F; LEITE, R D; DE OLIVEIRA DUARTE, A C. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.
- SRINIVASAN, S R *et al.* Changes in metabolic syndrome variables since childhood in prehypertensive and hypertensive subjects. The Bogalusa Heart Study. *Hypertension, United States*, v. 48, n. 1, p. 33-39, July 2016.
- STEEMBURGO, T *et al.* Fatores dietéticos e síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, v. 51, n. 9, p. 1425-1433, Dec. 2017.
- STENSVOLD, D; SLØRDAHL, S.A; WISLØFF, U. Effect of exercise training on inflammation status among people with metabolic syndrome. *Metabolic syndrome and related disorders*, 10(4):267-72, 2016.
- TÖNJES, A.; FASSHAUER, M.; KRATZSCH, J.; STUMVOLL, M.; BLÜHER, M. Adipokine pattern in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in comparison to normal glucose tolerance and diabetes. *PLoS One*, n. 9, v. 5, 2016.
- Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2019.
- WANNMACHER, L. Obesidade como fator de risco para morbidade e mortalidade: evidências sobre o manejo com medidas não medicamentosas. **Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) no Brasil**, v. 1, n. 7, 2016.
- WESTENDORP, R G J. *et al.* Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet*, v. 349, n. 9046, p. 170–173, 2018.
- ZIMMET, P *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents: the IDF consensus. *Pediatric Diabetes, Denmark*, v. 8, n. 5, p. 299-306, O

4. Artigo

Título: Polimorfismo do gene *IL10* -819 C>T e suas associações com a Síndrome Metabólica

Autores: Ana Paula Araújo da Silva¹; Aline Ribeiro Barros¹; Marina Morato Stival¹; Luciano Ramos de Lima¹; Silvana Schwerz Funghetto¹; Izabel Cristina Rodrigues da Silva¹

Afiliações:

1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil;

***Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Email: belbiomedica@gmail.com

Endereço: Centro Metropolitano, conjunto A, lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-275.

RESUMO

INTRODUÇÃO: As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) estão diretamente associadas ao risco de desenvolvimento da síndrome metabólica (SM), intensificando a probabilidade de complicações cardiovasculares precoces. Estudos recentes destacam que fatores plurimetabólicos estão fortemente presentes na desordem homeostática do organismo, constituindo o perfil característicos da síndrome. O tecido adiposo possui características secretoras de adipocinas anti-inflamatórias, dentre elas a Interleucina 10 (IL-10), definida como molécula polipeptídica reguladora, produzida tanto pela resposta imunológica inata quanto adaptativa, responsável na contribuição ativa no processo de inibição da síntese de intermediadores pró-inflamatórios. O gene *IL10* está localizado no cromossomo 1, em 1q31-32 e sua região promotora, rica em regiões polimórficas, associadas com níveis diferentes da citocina IL-10, ampliando o campo de estudo da sua intervenção na SM. Fatores intrínsecos e extrínsecos são abordados na literatura como colaboradores no aumento do volume de gordura visceral no abdômen, cuja a mesma é responsável pela liberação de ácidos graxos livres e moléculas pró-inflamatórias, contribuindo a susceptibilidade do desenvolvimento das DCNTs que constituem a o conjunto observado na SM. O mecanismo de evolução da síndrome não está esclarecido completamente, mas a IL-10 demonstra sua atividade com caráter positivo em relação a manutenção da homeostasia fisiológica, promovendo a redução do risco de doenças cardiovasculares precoces, favorecidas pela síndrome.

OBJETIVOS: Este estudo foi realizado a fim de verificar a frequência do polimorfismo no gene *IL10*-819 C>T em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM); e associar o nível de expressão sérico da IL-10 com a SM.

MATERIAL E MÉTODOS: Trata-se de um estudo observacional, descritivo, transversal do tipo caso-controle, em idosos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde do Distrito Federal – Brasil, no qual foram obtidas amostra de sangue e soro de 205 pacientes e aplicação de questionário. A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-10 foram medidos por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). E os dados estatísticos gerados pela análise no software SPSS versão 23.0.

RESULTADOS: O genótipo mais frequente foi o CT (n=151; 78,92%) seguido do CC (n = 22; 11,39%) e TT como o menos frequente (n=20; 9,69). Ao checar a diferença estatística, o método Pairwise confirma a diferença estatística entre os genótipos estudados. Sendo que a menor expressão da citocina IL-10 é evidente em indivíduos portadores do genótipo CC.

CONCLUSÃO: Por fim, este estudo mostrou o genótipo CC com a menor produção de citocina IL-10, comparado aos demais. Indivíduos que não possuem a SM, são identificados com maior expressão da citocina de perfil anti-inflamatório.

Palavras-chaves: Interleucina 10. Síndrome Metabólica. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chronic non-communicable diseases (CNCD) are directly associated with the risk of developing metabolic syndrome (MS), increasing the likelihood of early cardiovascular complications. Recent studies highlight that plurimetabolic factors are strongly present in the homeostatic disorder of the organism, constituting the characteristic profile of the syndrome. The adipose tissue has excretory characteristics of anti-inflammatory adipokines, including: Interleukin 10 (IL-10). It is defined as a regulatory polypeptide molecule, produced by both the innate and adaptive immune responses, responsible for the active contribution to the process of inhibiting the synthesis of pro-inflammatory intermediaries. The *IL10* gene is located on chromosome 1, in 1q31-32 and its promoter region, rich in polymorphic regions, associated with different levels of the IL-10 cytokine, expanding the field of study of its intervention in MS. Intrinsic and extrinsic factors are addressed in the literature as collaborators in increasing the volume of visceral fat in the abdomen, which is responsible for the release of free fatty acids and pro-inflammatory molecules, contributing to the susceptibility of the development of NCDs that constitute the set observed in SM. The mechanism of the syndrome's evolution is not completely understood, but IL-10 demonstrates its activity with a positive character in relation to the maintenance of physiological homeostasis, promoting the reduction of the risk of early cardiovascular diseases, favored by the syndrome.

OBJECTIVES: This study was carried out in order to verify the frequency of polymorphism in the IL10 -819 C> T gene in a population sample of elderly Brazilian individuals with Metabolic Syndrome (MS); Associate the serum expression level of IL-10 with MS.

MATERIAL AND METHODS: This is an observational, descriptive, cross-sectional case-control study in the elderly treated at a Basic Health Unit in the Federal District - Brazil, in which a blood and serum sample from 205 patients was obtained and applied questionnaire. Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum levels of IL-10 were measured using an enzyme immunoassay kit (ELISA). And the statistical data generated by the analysis in the SPSS software version 23.0.

RESULTS: The most frequent genotype was CT (n = 151; 78.92%) followed by CC (n = 22; 11.39%) and TT as the least frequent (n = 20; 9.69). When checking the statistical difference, the Pairwise method confirms the statistical difference between the studied

genotypes. The lower expression of the cytokine IL-10 is evident in individuals with the CC genotype.

CONCLUSION: Finally, this study showed the CC genotype with the lowest production of cytokine IL-10, compared to the others. Individuals who do not have MS are identified with greater expression of the cytokine with an anti-inflammatory profile.

Key-words: Interleukin 10. Metabolic Syndrome. Genetic Polymorphism.

4.1 Introdução

O envelhecimento da população acrescenta desafios para a saúde pública, principalmente devido a um aumento no número de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e as complicações de etiologia multifatorial¹. O número de idosos de 65 anos em 2020 é de 422 milhões e deve alcançar 2,5 bilhões em 2100^{1,2}.

Descrita brevemente como uma doença complexa e crônica, que sofre influência genética e ambiental, a Síndrome Metabólica (SM) consiste em um apanhado de fatores plurimetabólicos, que promovem uma desordem no organismo, capazes de provocar precocemente uma alteração cardiovascular aterosclerótica, e um provável desenvolvimento de diabetes mellitus. Os indicadores como dislipidemia aterogênica, pressão arterial elevada, disglucemia, junto com resistência à insulina, além da ocorrência de hipertensão e obesidade visceral, estado pré-trombótico e um estado pró-inflamatório, configuram este quadro patológico e seu perfil de agravo^{3,4,5}.

A estratégia principal de diagnóstico da SM está na identificação do risco para doenças cardiovasculares relacionado à presença de fatores de risco somados a ordens socioambientais e genéticas, independentemente do critério base de diagnóstico utilizado^{5,6}.

Um estudo feito com indivíduos obesos, mostra que os níveis de citocinas pró-inflamatórias são alterados devido a estimulação provocada pelo tecido adiposo, contribuindo para o estresse oxidativo, posteriormente com o dano celular e a contribuição para o desenvolvimento das DCNTs³.

Fatores genéticos influenciam o desenvolvimento e a progressão de DCNT ao promover alterações na resposta imune-inflamatória⁸. Uma potente citocina anti-inflamatória capaz de exercer um papel de extrema importância na prevenção de doenças autoimune e inflamatórias é a Interleucina 10 (IL-10)^{7,5}.

O gene responsável pela codificação da IL-10 está posicionado no braço longo do cromossomo 1, localizado entre a junção 1q31-32. A literatura científica apresenta três comuns polimorfismos localizados em sua região promotora, sendo eles: -592 A/C (rs1800872), -1082 G/A (rs1800896) e -819 T/C (rs1800871)^{8,9}.

Esses polimorfismos estão associados à baixa/alta quantidade de secreção de IL-10⁷. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar a frequência do polimorfismo *IL10* -819 C>T em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM) frequentadores de uma Unidade de Saúde (UBS),

localizada no bairro de Ceilândia, no Distrito Federal e associar esta alteração genética com algumas características clínicas, além de estabelecer a relação genótipo-fenótipo deste polimorfismo, pela avaliação dos níveis séricos da citocina.

4.2 Materiais e métodos

Pesquisa realizada no Distrito Federal, com intuito de compor um estudo observacional, descritivo, transversal do tipo caso-controle em adultos idosos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde (UBS) do Distrito Federal, Brasil. A população selecionada para o estudo era composta por 205 idosos acompanhados pela equipe multidisciplinar da unidade.

Os indivíduos participantes do estudo foram provenientes de acompanhamento na Unidade Básicas de Saúde (UBS) na Região Administrativa Ceilândia. Foram estabelecidos os seguintes critérios para seleção de participação: Inclusão, ter idade ≥ 60 anos; ter acompanhamento periódico na Unidade de Saúde em questão; ser capaz de compreender, verbalizar e responder as questões propostas; e expressar o aceite de participação como sujeito da pesquisa após esclarecimento dos objetivos e métodos de pesquisa, por assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) de acordo com resolução n°. 466/2012. Foram critérios de Exclusão: ser portadora de doenças mentais ou de neoplasias em tratamento; ter evento cardíaco anterior informado na entrevista; ter pontuação ≤ 9 pontos no Mini-Exame de Saúde Mental (MMSE); portar marca-passo; ou prótese metálica.

Ao classificar como portador da SM ou ausência, foi considerado as condições de acordo com o *National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) classifica-se síndrome metabólica quando é diagnosticado a presença de no mínimo 3 condições das 5 descritas na literatura.

A amostra probabilística foi calculada considerando o erro amostral de 5%, intervalo de confiança (IC) de 95%, tamanho da população de 205 pessoas. As etapas de coleta de dados ocorreram após a assinatura Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), de fevereiro a junho de 2019. Cada item foi devidamente esclarecido e aspectos éticos estabelecidos no território nacional foram respeitados. Seguiu a legislação em vigor no Brasil previa para a Resolução n ° 466 (2012). Este

projeto está cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob nº AB9E335 conforme a Lei nº 13,123/2015 e seus regulamentos, decreto nº 8.772/2016 (ANEXO A), e foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS) da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (SES-DF) e aprovado com parecer de número 1.355.211/2017 (ANEXO B, C, D). As características clínicas dos participantes foram registradas em fichas de identificação (ANEXO E) e Mini-Exame de Saúde Mental (MMSE) (ANEXO F).

O material biológico analisado é proveniente de amostras de sangue coletadas em frascos de EDTA para isolamento do DNA. Os níveis da citocina IL-10 foram medidos pelo princípio metodológico ELISA, cuja a intensidade é medida por espectrofotômetro com comprimento de onda indicado pelo fabricante do reagente de diagnóstico empregado. O DNA foi extraído com uso do PureLink® Genomic DNA Mini Kit da empresa Invitrogen. A concentração de DNA foi determinada através da corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL.

Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia de PCR (Polymerase Chain Reaction) para estudo da distribuição dos SNPs. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar os polimorfismos foram respectivamente: Senso C>T 5'-TCATTCTATGTGTGGAGATGG-3' e Antisenso 5'-TGGGGGAAGTGGGTAAGAGT-3'. Estes oligonucleotídeos flanqueiam o gene *IL10* na região promotora e posição -819 C>T. As condições de termociclagem foram: 94°C por 5 minutos, seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos a 62°C por 45 segundos e 72°C por 45 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o termociclador Life Express ThermalCycler TC-96/G/H(b).

Em cada reação foram utilizados 4,0μL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/μL; 2,5μL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5μL de MgCl₂ 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 0,5μL de desoxirribonucleotídeostriphosfato (dNTPs; 2,5mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 0,5μL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 5U/μL); 1,5μL de cada oligonucleotídeo R e F (10μM, IDT

technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25µL por reação.

O produto da PCR foi digerido com a enzima de restrição *MaeIII*. Formando fragmentos com números diferentes de pares de base dependendo do seu genótipo. O fragmento de 209 pb, em caso de C>C, 152 pb e 84 pb na presença de T>T, ou na presença de T>C será revelado 3 bandas, sendo 209 pb, 152 pb e 84 pb. Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose brometado. Para avaliação de controle de qualidade, uma amostra com genótipo conhecido e um branco de reagente foram incluídos na corrida eletroforética.

Para a análise estatística, as frequências genótípicas foram estimadas por contagem direta, por meio do programa SPSS versão 23.0. Para comparação das distribuições das frequências foi aplicado o teste do qui-quadrado, de forma a detectar valiadados (caso e controle). Foram consideradas associações com possíveis associações dos genótipos entre os dois grupos a probabilidades menores que 5% ($P < 0,05$). A variável quantitativa “parâmetro inflamatório” foi descrita em termos de suas estatísticas-resumo (mediana e intervalo interquartil).

4.3 Resultado e Discussão

Existe uma variação muito grande na produção de IL-10 entre os indivíduos; estudos em gêmeos sugerem que até 75% da variabilidade se devem a fatores genéticos. A produção é controlada no nível da transcrição e algumas variações podem ser explicadas por dois polimorfismos de microssatélites (*IL10G* e *IL10R*) na região promotora⁷.

No total, 205 pacientes participaram do estudo, porém 193 amostras foram utilizadas, as demais por erro de manipulação não foram contabilizadas no estudo. O genótipo mais frequente encontrado nas análises foi o CT (n=151; 78,92%) seguido do CC (n = 22; 11,39%) e TT como o menos frequente (n=20; 9,69%) encontrado no grupo de amostras.

O gene polimórfico está diretamente ligado ao nível de expressão das respectivas citocinas⁷. No Gráfico 1, é possível observar diferentes níveis de concentração de IL-10/mL de acordo com os genótipos identificados no gráfico. O genótipo T>T apresenta a mediana mais elevada de expressão da citocina IL-10/mL, seguida de C>T e C>C. Ao observarmos o gráfico é possível identificar que o genótipo TT possui maior expressão da citocina IL-10 do que os demais. De acordo com o Teste de Kruskal-Wallis, podemos notar que existe diferença estatística relevante entre os níveis de expressão da IL-10 e os genótipos, o método Pairwise demonstrada na Tabela 2 confirma a diferença estatística entre os genótipos CC-CT e CC-TT, apontados. Reforçando que a menor expressão da citocina IL-10 é evidente em indivíduos portadores do genótipo CC.

Gráfico 1 - Níveis de IL-10 no soro de idosos com síndrome metabólica conforme a distribuição genotípica

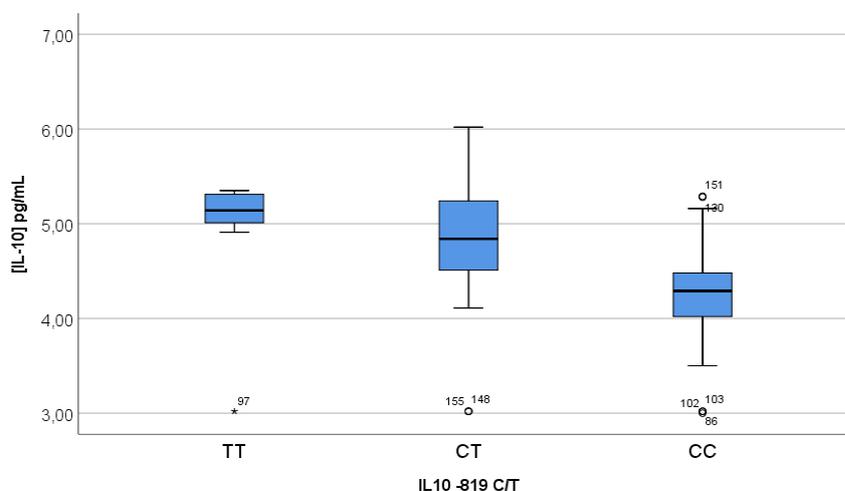


Gráfico realizada por meio do método estatístico de Kruskal-Wallis, fornecendo a mediana de expressão em pg/mL da IL-10 no soro de idosos acometidos pela síndrome metabólica acompanhados em uma Unidade Básica de Saúde –UBS em Ceilândia, Distrito Federal, conforme a distribuição genotípica.

Fonte: Análise estatística realizada no SPSS versão 23.0.

Indivíduos que não possuem a SM, são identificados com níveis maiores de expressão da IL-10 [5,35 IL-10 pg/mL], citocina de perfil anti-inflamatório apresentada nesse estudo, comparado aos que possuem as condições que os inserem no grupo

portador da síndrome, tendo os níveis de expressão da IL-10 reduzidos [4,59 IL-10 pg/mL].

Tabela 2 – Distribuição dos níveis de IL-10 no soro de pacientes com síndrome metabólica conforme distribuição genotípica

| Genótipos <i>IL10 -819</i> | [IL-10] pg/MI | | |
|----------------------------|---------------|---------|--------------|
| | Percentil 25 | Mediana | Percentil 75 |
| TT | 5,01 | 5,14 | 5,31 |
| CT | 4,51 | 4,84 | 5,24 |
| CC | 4,02 | 4,29 | 4,48 |

Análise estatística realizada por meio do método Pairwise, cujo fornece a mediana de expressão em pg/mL a concentração de IL-10 no soro de idosos acometidos pela síndrome metabólica conforme a distribuição genotípica.

Fonte: Análise estatística realizada no SPSS versão 23.0.

De acordo com o *National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) classifica-se síndrome metabólica quando é diagnosticado a presença de no mínimo 3 condições das 5 descritas na literatura. Ao tratar os dados gerados por este estudo, uma incógnita que foi analisada pelo Teste de Kruskal-Wallis é a concentração em pg/mL da IL-10 em comparação com o número de condições presentes no indivíduo que são previamente estabelecidas como necessárias para o diagnóstico da Síndrome. Não considerado quais as condições, e sim quantas diagnosticadas em conjunto. É evidente a redução na concentração da citocina IL-10 quando constatado a presença da síndrome no indivíduo⁴.

Estudo realizado com pacientes que apresentavam ou não a infecção por meningite meningocócica, diferenciavam-se entre si na análise de concentração de IL-10 circulante. Os pacientes que mantinham uma condição inflamatória pela infecção foram identificados por um menor valor de [IL-10], em comparação aos pacientes apenas com mau prognóstico⁹. Resultado esse que reforça a associação da IL-10 com níveis inflamatórios sistêmicos, representados no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Níveis de expressão sérica de citocina IL-10 conforme a presença ou ausência da síndrome metabólica no soro de idosos.

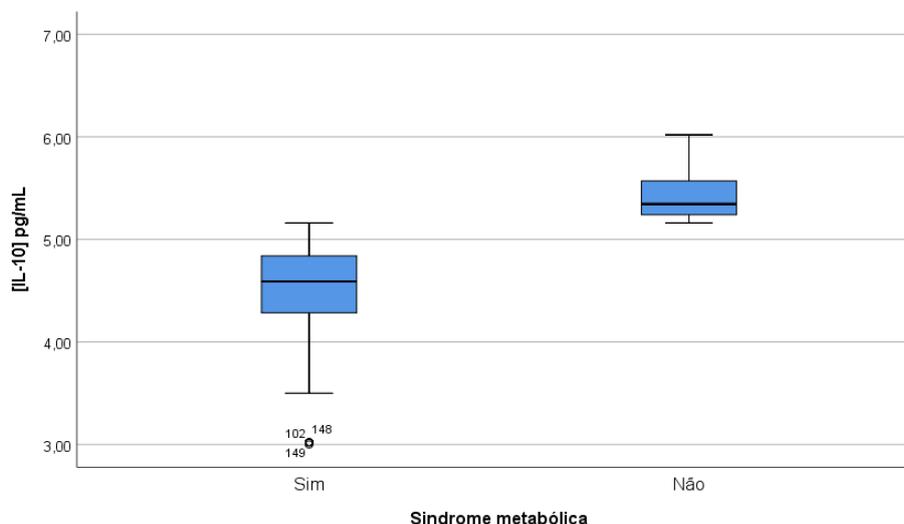


Gráfico realizado fornecendo a mediana de expressão em pg/mL da IL-10 no soro de idosos acompanhados em uma Unidade Básica de Saúde –UBS em Ceilândia, Distrito Federal, conforme a presença ou ausência da síndrome metabólica.

Fonte: Análise estatística realizada no SPSS versão 23.0.

O Gráfico 3 organiza os dados analisados envolvendo os níveis de expressão sérica do IL-10, de acordo com o número de DCNT presentes nos indivíduos participantes. Nota-se ao analisar a disposição do gráfico que a redução de expressão sérica da citocina anti-inflamatória IL-10, ao ser instalado três ou mais DCNT, ocorre assim como previsto na literatura atual. Visto que, para o diagnóstico de SM é necessária a presença da circunferência abdominal elevada, acompanhada por mais dois fatores ligado a SM: altas taxas de HDL; triglicerídeos; pressão arterial alterada; e/ou glicemia de jejum elevada; conforme estabelecido pela IDF (*International Diabets Federation*)⁵.

A redução nos níveis da interleucina 10, foi descrita pelos autores Do Monte et al. (2019), Mattos et al. (2017) e Santos et al. (2017) em pacientes portadores da síndrome metabólica^{5,7,10}. O indivíduo ao possuir no mínimo de 3 das doenças crônicas não transmissíveis, sendo que não é levado em consideração quais das enfermidades estão presentes na soma para o diagnóstico, exceto a circunferência abdominal elevada que deve estar obrigatoriamente presente, podendo afirmar a presença da síndrome metabólica e a redução significativa na concentração da

citocina circulante^{5,7,10,11}. Resultado esse defendido pelos autores supracitados e replicável neste estudo.

Gráfico 3 - Níveis séricos de citocina IL-10 conforme a quantidade de DCNT obrigatórias para o diagnóstico da síndrome metabólica.

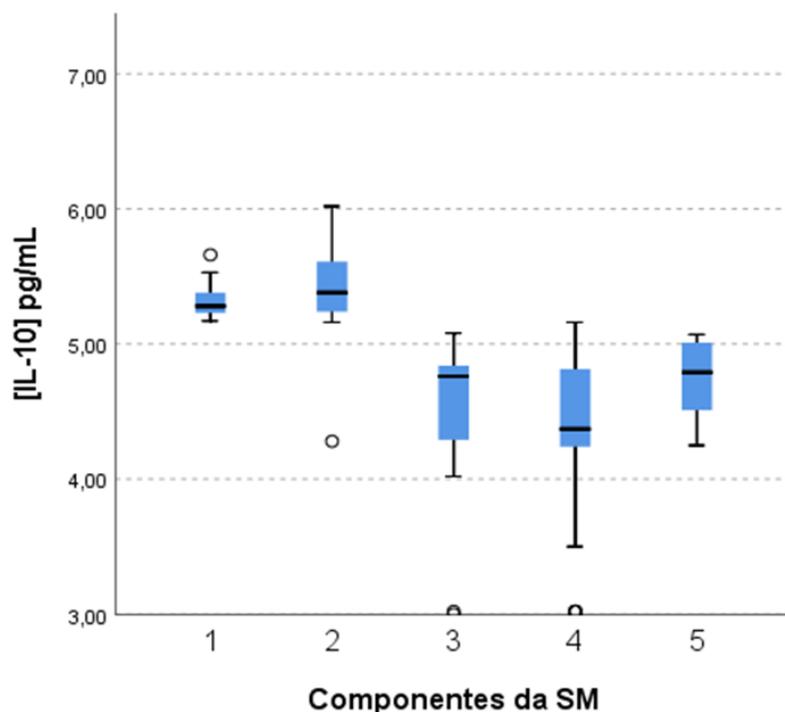


Gráfico realizado através do Teste de Kruskal-Wallis, fornecendo níveis de expressão em pg/mL da IL-10 no soro de idosos acompanhados em uma Unidade Básica de Saúde –UBS em Ceilândia, Distrito Federal, conforme o número de doenças crônicas não transmissíveis presentes.

Fonte: Análise estatística realizada no SPSS versão 23.0.

Ao tratar do resultado adquirido estatisticamente, as características que pontuam o desenvolvimento da síndrome, se enquadram aquelas condições que estão diretamente ligadas a alterações na via de metabolização de carboidrato e lipídeos. Vias essas que sofrem interferências devido a instalação da resistência à insulina, oriunda do acúmulo de gordura visceral⁴.

A redução do efeito ocasionado pela insulina, em progressão de acontecimentos, leva a uma maior produção de insulina pelo pâncreas, afim de normalizar os níveis glicêmicos, podendo evoluir para diabetes do tipo 2, caso permaneça instalada essa condição por um período de tempo significativo. O autor

também menciona as alterações no metabolismo de lipídios, associando a causa ao surgimento de dislipidemias¹².

É notável um efeito cascata de fatores metabólicos, iniciando com mediadores pró-inflamatórios como por exemplo, a lipotoxicidade das substâncias produzida pelo tecido da região abdominal, levando a toda alteração do meio à um estado de inflamação crônica, contribuindo para o desenvolvimento de diabetes tipo 2, hipertriglicemia e a baixa concentração de HDL colesterol¹³. Contribuindo para formação do meio favorável para doenças cardiovasculares, expondo o indivíduo a possíveis restrições no seu cotidiano devido às limitações que a síndrome expõe conforme sua progressão¹⁴.

4.4 Conclusão

Este estudo identificou que o genótipo mais frequente foi o CT (n=151; 78,92%) dos pacientes recrutados eram portadores do alelo ancestral C do polimorfismo *IL10*-819 C>T. A presença das variantes da região promotora do gene está associada aos níveis de expressão de citocina, característica geneticamente determinada. É possível observar no Gráfico 1 e na Tabela 2 as variações de expressão de IL-10 conforme o genótipo do indivíduo⁴.

Ao ser diagnosticado a presença da SM é possível observar através do Gráfico 2 a redução dos níveis séricos da citocina, visto que na sua escassez é aumentado o risco de desenvolver um estado pró-inflamatório crônico é que, por sua vez, torna vulnerável a instalação de DCNT contribuindo para a evolução da SM^{5,7,8}.

No Gráfico 3 observa-se o número de DCNT que o indivíduo possui, de acordo com os critérios pré-estabelecidos pela NCEP-ATP III de 2001, é necessário o mínimo de 3 DCNT, cujo uma de caráter obrigatório: aumento da circunferência abdominal e duas de caráter não obrigatório. O gráfico não leva em consideração quais das DCNTs os indivíduos são cometidos, levando o foco para a redução significativa no nível de IL-10 ao indivíduo possuir o mínimo de 3 DCNTs.

Este estudo possui o objetivo de identificar a associação da redução dos níveis séricos de IL-10 no soro de idosos acompanhando em uma Unidade Básica de Saúde

de Ceilândia – DF, acometidos por DCNT. A proposta foi alcançada ao apresentar diferença estatística entre a expressão da citocina nos genótipos estudados. Estudos publicados anteriormente, confirmam redução da citocina em estado inflamatório crônico ocasionado pelas DCNT presentes. Os mecanismos relacionados a redução dos níveis séricos de IL-10, carecem de mais estudos cujo o mecanismo é alvo para detalhamentos.

Referências

- 1) KUSCHNIR, MCC. *et al.* ERICA: prevalência de síndrome metabólica em adolescentes brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p. 11s, 2016.
- 2) ALVES, JED. Envelhecimento populacional no Brasil e no mundo. **Revista Longeviver**, 2019.
- 3) DE OLIVEIRA ALBUQUERQUE, T *et al.* Critérios utilizados em estudos brasileiros para o diagnóstico de síndrome metabólica em crianças e adolescentes. **Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health ISSN**, v. 2178, p. 2021.
- 4) REYNARD, M P *et al.* Allele frequencies of polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha, interleukin- 10, interferon-gamma and interleukin-2 genes in a North European Caucasoid group from the UK. *Eur. J. Immunogenet.* v. 27, n.4, p. 241-249, 2017.
- 5) DO MONTE, IP *et al.* Comparação entre quatro diferentes critérios de diagnóstico de síndrome metabólica em indivíduos do Arquipélago do Marajó (Pará, Brasil). **Revista Da Associação Brasileira De Nutrição-RASBRAN**, v. 10, n. 1, p. 96-102, 2019.
- 6) DE OLIVEIRA, CBC *et al.* Obesidade: inflamação e compostos bioativos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2020.
- 7) SRINIVASAN, S R *et al.* Changes in metabolic syndrome variables since childhood in prehypertensive and hypertensive subjects. The Bogalusa Heart Study. *Hypertension, United States*, v. 48, n. 1, p. 33-39, July 2016.

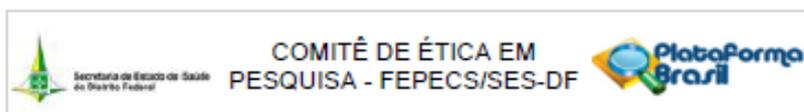
- 8) SANTOS, PF *et al.* Estudos sobre o papel de interferon stimulated gene 15 (ISG15) como uma citocina reguladora da produção de interleucina-10 em monócitos humanos. 2017.
- 9) MOGHMI, M *et al.* ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DA INTERLEUCINA-10-592A> CE-819T> C COM RISCO DE CÂNCER GÁSTRICO: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE DE 44 ESTUDOS DE CASO-CONTROLE. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 32, n. 1, 2019.
- 10) BORTOLETTO, MSS *et al.* Síndrome metabólica, componentes e fatores associados em adultos de 40 anos ou mais de um município da Região Sul do Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 1, p. 32-40, 2016.
- 11) ROCHA, FL; MELO, RLP; MENEZES, TN. Fatores associados à síndrome metabólica em idosos do interior do Nordeste brasileiro. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 19, n. 6, p. 978-986, 2016.
- 12) MATTOS, MF *et al.* Níveis séricos e polimorfismos genéticos das interleucinas IL-6 E IL-10 em indivíduos com síndrome de down. **Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP**. São José do Rio Preto. P. 69. 2017.
- 13) STOLF, CS; CASARIN, RCV; TAIETE, T. Influência do polimorfismo rs6667202 nos níveis interleucina-10 no fluido crevicular gengival de pacientes com periodontite agressiva. *Revista dos Trabalhos de Iniciação Científica da UNICAMP*, n. 26, 2018.
- 14) WEBER, AV *et al.* Síndrome Metabólica: Relato De Caso No Âmbito Laboratorial. *Revista Saúde Integrada*, v. 9, n. 17, p. 48-57, 2016.

1 ANEXOS

ANEXO A - CADASTRO SIGEN

|  Ministério do Meio Ambiente CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO <small>SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO</small> Comprovante de Cadastro de Acesso Cadastro nº AB9E335 | |
|---|--|
| <p>A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.</p> | |
| Número do cadastro: | AB9E335 |
| Usuário: | Izabel Cristina Rodrigues da Silva |
| CPF/CNPJ: | 779.978.081-91 |
| Objeto do Acesso: | Patrimônio Genético |
| Finalidade do Acesso: | Pesquisa |
| Espécie | |
| Homo sapiens | |
| Titulo da Atividade: | ABORDAGEM DE CONDIÇÕES CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA A SAÚDE |
| Equipe | |
| Izabel Cristina Rodrigues da Silva | Universidade de Brasília |
| Marina Morato Stival | Universidade de Brasília |
| Silvana Schwerz Funghetto | Universidade de Brasília |
| Data do Cadastro: | 30/04/2018 05:45:53 |
| Situação do Cadastro: | Concluído |
|  | |
| <p>Conselho de Gestão do Patrimônio Genético Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em: 5:46 de 30/04/2018.</p>  <p>SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO - SISGEN</p> | |

ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS – SÍNDROME METABÓLICA)



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

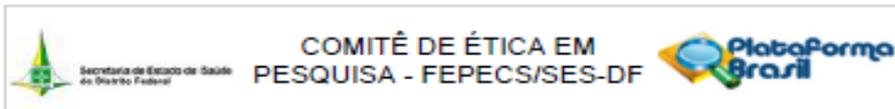
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

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 466 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 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 |
| TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCE.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: 70.710-604
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3325-4955 Fax: (33)3325-4955 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com

ANEXO C - 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 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 obtidas 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 D - 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 E – 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: _____

7. Antecedentes Cardíacos

() Sim () Não

ANEXO F - Mini Mental State Examination (MMSE)

1. Orientação (1 ponto por cada resposta correta)

Em que ano estamos? _____

Em que mês estamos? _____

Em que dia do mês estamos? _____

Em que dia da semana estamos? _____

Em que estação do ano estamos? _____

Nota: _____

Em que país estamos? _____

Em que distrito vive? _____

Em que terra vive? _____

Em que casa estamos? _____

Em que andar estamos? _____

Nota: _____

2. Retenção (contar 1 ponto por cada palavra corretamente repetida)

"Vou dizer três palavras; queria que as repetisse, mas só depois de eu as dizer todas; procure ficar a sabê-las de cor".

Pêra _____

Gato _____

Bola _____

Nota: _____

3. Atenção e Cálculo (1 ponto por cada resposta correta. Se der uma errada, mas depois continuar a subtrair bem, consideram-se as seguintes como corretas. Parar ao fim de 5 respostas)

"Agora peço-lhe que me diga quantos são 30 menos 3 e depois ao número encontrado volta a tirar 3 e repete assim até eu lhe dizer para parar".

27_ 24_ 21 _ 18_ 15_

Nota: _____

4. Evocação (1 ponto por cada resposta correta.)

"Veja se consegue dizer as três palavras que pedi há pouco para decorar". Pêra

Gato _____

Bola _____

Nota: _____

5. Linguagem (1 ponto por cada resposta correta)

a. "Como se chama isto? Mostrar os objetos:

Relógio _____

Lápis _____

Nota: _____

b. "Repita a frase que eu vou dizer: O RATO ROEU A ROLHA"

Nota: _____

c. "Quando eu lhe der esta folha de papel, pegue nela com a mão direita, dobre-a ao meio e ponha sobre a mesa"; dar a folha segurando com as duas mãos.

Pega com a mão direita _____

Dobra ao meio _____

Coloca onde deve _____

Nota: _____

d. "Leia o que está neste cartão e faça o que lá diz". Mostrar um cartão com a frase bem legível, "FECHE OS OLHOS"; sendo analfabeto lê-se a frase.

Fechou os olhos _____

Nota: _____

e. "Escreva uma frase inteira aqui". Deve ter sujeito e verbo e fazer sentido; os erros gramaticais não prejudicam a pontuação.

Frase:

Nota: _____

6. Habilidade Construtiva (1 ponto pela cópia correta.)

Deve copiar um desenho. Dois pentágonos parcialmente sobrepostos; cada um deve ficar com 5 lados, dois dos quais intersectados. Não valorizar tremor ou rotação.

Cópia:

Nota: _____

TOTAL(Máximo 30 pontos): _____

Considera-se com defeito cognitivo: • analfabetos ≤ 15 pontos

• 1 a 11 anos de escolaridade ≤ 22

• com escolaridade superior a 11 anos ≤ 27

ANEXO G - NORMAS DO PERIÓDICO

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado na Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts e é 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, de atualização, experimentais, 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 apenas em inglês, com resumo em português ou 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

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 bibliográficas.

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 GNPapers aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.

O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito.

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 parêntese.