



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

CURSO DE FARMÁCIA

DOUGLAS HENRIQUE MELO CAMPOS

**POLIMORFISMO GENÉTICO DA IL-6 ASSOCIADO AO ACIDENTE VASCULAR
ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E AO ANEURISMA INTRACEREBRAL**

BRASÍLIA - D.F.

2014

DOUGLAS HENRIQUE MELO CAMPOS

**POLIMORFISMO GENÉTICO DA IL-6 ASSOCIADO AO ACIDENTE VASCULAR
ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E AO ANEURISMA INTRACEREBRAL**

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

Orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA - D.F.

2014

DOUGLAS HENRIQUE MELO CAMPOS

**POLIMORFISMO GENÉTICO DA IL-6 ASSOCIADO AO ACIDENTE VASCULAR
ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E AO ANEURISMA INTRACEREBRAL**

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva (FCE/ Universidade de
Brasília)

Prof.Msc. Daniel Oliveira Freire (Faculdade LS)

Prof. Msc. Linconl Agudo Oliveira Benito (Faculdade LS)

BRASÍLIA - D.F.

2014

DEDICATÓRIA

A todos que acham estarem perdidos, àqueles que estão trilhando um caminho e que mesmo sem terem certeza de aonde querem chegar estão trabalhando e querendo ser melhor a cada dia, a esses fica o dizer de que apesar de não estarmos onde queremos, estamos caminhando até lá.

AGRADECIMENTOS

À enfermeira Hélia Silva que realizou as coletas no Hospital de Base do Distrito Federal, ao médico Luzitano Brandão Ferreira, a Thais Souza que foi cortês e receptiva durante a jornada laboratorial, e aos pacientes que colaboraram para a realização desse estudo, pois com o trabalho desses profissionais e a colaboração desses pacientes é que se fez possível o desenvolvimento desse estudo a fim de que algo bom possa ser revertido para a sociedade, a essas pessoas a minha esperança de que o mundo pode ser um lugar melhor.

A Prof. Dra. Izabel, que além de mestre, ao passar as orientações e direcionamentos necessários para a realização do trabalho, sempre visando a ética profissional e o aprendizado pessoal, foi amiga, nas inúmeras conversas sobre qualquer outra coisa que não fosse o temido trabalho de conclusão de curso e a paciência e boa vontade para entender o meu tempo. A professora e amiga Izabel a minha admiração.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, às amizades criadas, ao conhecimento compartilhado e às lições que foram aprendidas pela vivência. A esses o meu muito obrigado.

A Dionísio, funcionário dedicado e que durante esta minha primeira passagem pela universidade foi como um amigo ou um tio, sempre me ajudando quando possível e prestando socorro quando acionado. A Dionísio a o meu reconhecimento.

A Pitchula e Cleóprata, que mesmo sem nunca terem falado uma só palavra algumas vezes eram quem mais pareciam entender tudo o que se passava, aquelas cujos olhos eram transformados em risos e afagos em alegria. A elas o meu carinho.

À Larissa, minha irmã, pelas conversas e pela convivência ao longo de todos esses anos, lealdade essa que me faz ver a cada dia que mesmo com toda a diversidade e propriedade das pessoas dentro da minha própria casa a família ainda continua sendo um porto seguro. A Larissa o meu companheirismo.

A José Maria Silva Campos e Marta Maria de Melo Campos, por terem me ensinado valores essenciais e que pretendo leva-los comigo durante toda a minha jornada, por terem, muitas vezes, terem feito mais do que estava ao alcance para proporcionar a mim e a minha irmã condições que os mesmos não tiveram para que tenhamos um futuro mais tranquilo, promissor e que sejamos o que quisermos ser, pelos incentivos e carinho. Aos meus pais a minha eterna gratidão.

À Thaísa Pereira Barbosa, namorada, amiga e companheira, dona de sapiência e visão de mundo únicas e admiráveis, quem sempre soube conduzir os momentos de desespero e falta de esperança com destreza, carinho e amor que além de reverter tais quais quadros ainda fortaleceram os nossos laços, me apoiando nos momentos de dificuldade e me dando força e coragem, a maior incentivadora e que por vezes acredita mais em mim que eu mesmo. À Pequena o meu amor.

A Deus pelo dom da vida, pela oportunidade e pelas condições de chegar até aqui e de ainda querer ir muito mais longe. A Deus a minha fé.

“A persistência é o caminho do êxito.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

O acidente vascular encefálico (AVE) tem sido cada vez mais observado na população e já é ocorrência frequente em ambiente hospitalar. Os fatores de risco para o acontecimento podem ser modificáveis e/ou não modificáveis, onde os principais são hipertensão e a idade, respectivamente. Os polimorfismos são estudados com a finalidade de descobrir novas origens de doenças que até então são desconhecidas, uma ferramenta para isso é estudar a origem genética, nesse ponto, estudos sobre origens e apresentação dos polimorfismos são desenvolvidos, pois estes são utilizados como marcadores para localizar genes associados a doenças em estudos genéticos populacionais. À vista disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a associação do polimorfismo -174 G/C da interleucina-6 ao AVE hemorrágico e ao aneurisma intracerebral. O grupo estudado foi composto por: 16 indivíduos controle, e 42 indivíduos caso (portadores de AVE ou aneurisma intracerebral). Os grupos foram recrutados, e contribuíram com amostras de sangue, informações clínicas, dentre elas idade, glicemia, sexo, presença de hipertensão, diabetes, tabagismo, etilismo, glicemia, creatinina e número de plaquetas. Foi feita a extração de DNA e uma PCR, seguida de perfil de restrição enzimática para estudo do polimorfismo. Foi verificado que a distribuição do polimorfismo genético na região promotora do gene IL-6 em sujeitos com ao AVEH e aneurisma intracerebral, comparados com o grupo controle apresentou diferença estatística, e o alelo G foi observado como fator de risco para a ocorrência de AVEH e aneurisma intracerebral, conforme já observado em outros estudos. Quanto aos aspectos clínicos, havia diferença na presença de hipertensão arterial (quando os casos são comparados com os controles) e número plaquetas (observando apenas o grupo caso, os pacientes portadores de aneurisma apresentaram elevado número de plaquetas, mas que ainda estão dentro da normalidade segundo a literatura).

Palavras chave: **polimorfismo; interleucina- 6; citocinas; acidente vascular encefálico; aneurisma.**

ABSTRACT

Stroke has been increasingly observed in the population and it is frequently occurring in hospitals. Risk factors for the event can be modified and / or non-modifiable, which are the main hypertension and age, respectively. The polymorphisms are studied in order to find new sources of diseases which are hitherto known, it is a tool to study the genetic origin at this point sources and studies show polymorphisms are developed, as these are used as markers to locate genes associated with diseases in population genetics studies. In view of this, the present study aims to evaluate the association of the polymorphism -174 G / C interleukin-6 to hemorrhagic stroke and intracerebral aneurysm. The study group was composed of 16 control subjects and 42 case subjects (patients with stroke or intracerebral aneurysm). The groups were recruited, and contributed blood samples, clinical information, among them age, blood glucose, gender, presence of hypertension, diabetes, smoking, alcohol consumption, blood glucose, creatinine and platelet count. DNA extraction was performed and PCR, followed by restriction enzyme profile to study the polymorphism. It was found that the distribution of genetic polymorphism in the promoter region of the IL-6 gene in subjects with the Aveh and intracerebral aneurysm, compared with the control group showed statistical difference, and the G allele was observed as a risk factor for the occurrence of Aveh and intracerebral aneurysm, as observed in other studies. Regarding clinical features, there was a difference in the presence of arterial hypertension (when cases are compared with the controls) and platelet number (just watching the case group, the patients with aneurysm showed a high number of platelets, but are still within the normal range according to the literature).

Key words: polymorphism; interleukin- 6; cytokines; stroke; cerebral aneurysm.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Resposta imunológica.....	12
1.2	Citocinas	13
1.3	A interleucina 6	14
1.4	Polimorfismo e gene da IL-6.....	16
1.5	Acidente Vascular Encefálico	17
2	JUSTIFICATIVA.....	21
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo geral:	21
3.2	Objetivos Específicos:.....	21
4	METODOLOGIA.....	22
4.1	Aprovação em comitê de ética de pesquisa e ficha de avaliação clínica.....	22
4.2	Coleta de material para análise de Patologia Molecular clínica.....	25
4.3	Participantes da pesquisa	25
4.4	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	26
4.5	Termo de Guarda de Material Biológico	26
4.6	Procedimentos técnicos e laboratoriais	27
4.6.1	<i>Extração de DNA.....</i>	27
4.6.2	<i>PCR (Reação em cadeia da Polimerase) Qualitativo.....</i>	27
4.6.3	<i>Digestão enzimática.....</i>	28
4.7	Análise estatística.....	28
4.7.1	<i>Estimativa das frequências genotípicas.....</i>	28
4.7.2	<i>Análise dos dados dos sujeitos de pesquisa.</i>	28
5	RESULTADOS.....	30

5.1	Características dos sujeitos	30
5.2	Análise do polimorfismo -174 G/C na região promotora do gene da IL-6	33
6	DISCUSSÃO	35
7	CONCLUSÃO	39
8	REFERÊNCIAS	40
	ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Resposta imunológica*

A resposta imune ocorre por meio de diversas formas e em diversos níveis de complexidade, a depender do agente invasor. Tanto a supra como a super resposta imune pode vir a ser nociva para o hospedeiro. A resposta imune se dá por meio de células específicas e com funções definidas. A primeira linha de defesa da resposta imune se faz presente com neutrófilos, macrófagos, células natural killers (NK) e células dendríticas (Montalvillo, Garrote *et al.*, 2014).

Os neutrófilos são células que possuem diâmetro entre 9 a 14 μm , e tem em sua constituição citoplasma granulado. Apresentam vida curta e são importantes fagocitadores de bactérias. Constituem a maior porcentagem das células de defesa do sistema imune (Lazarou, 2014).

Macrófagos são células fagocíticas de relevante longevidade e tem como funções básicas: a fagocitose; a apresentação de antígenos à células T para início da resposta imune específica; e a liberação de citocinas para desencadeamento de resposta imune inata. São importantes para início da resposta inflamatória e de fase aguda. Um possível local de armazenamento de macrófagos é o baço (Schulert e Grom, 2014).

As células NK são parte fundamental da resposta imune inata. São responsáveis pela resposta precoce à infecção viral, além de possuírem atividade antitumoral e aumentar a resposta inflamatória após infecções bacterianas. São linfócitos granulares grandes e que possuem muitas características semelhantes com as células T. Ao contrário das células T, as células NK não reconhecem antígenos específicos e não desenvolvem memória (Ortaldo, Wiltrout *et al.*, 2014).

Células dendríticas podem ser de origem mieloide ou linfoide. São capazes de produzir citocinas. As células dendríticas podem se apresentar na forma madura ou imatura. As células dendríticas imaturas se encontram no sangue e nos tecidos, atuam nas respostas de citocinas à inflamação, processando o antígeno. Já as células dendríticas maduras ou, simplesmente, células dendríticas podem ser

encontradas nos linfonodos e nos tecidos, são eficientes apresentadoras de antígeno (Haniffa, Gunawan *et al.*, 2014).

Os linfócitos são expressos em dois grandes tipos que se subdividem em especificidades, esses grandes grupos são B e T. É característica comum dos linfócitos ter de 6 a 10 μm de diâmetro, possuir núcleo grande e citoplasma menor (Li e Ley, 2014).

As células do tipo B, ou linfócitos B, tem como principal função produzir anticorpos, mas além dessa função principal ainda acumulam as funções de internalizar o antígeno, processa-lo e apresenta-lo à célula T para que a resposta imune seja aumentada. Essas células podem ser identificadas pela presença de imunoglobulinas, moléculas de MHC classe II e receptores dos produtos C3b e C3 da cascata de complemento em sua superfície celular. O nome “B” vem do inglês “bonemarrow” que significa “medula óssea” e também do seu sítio de diferenciação nas aves, a Bursa de Fabricius. São células que quando ativadas se desenvolvem em células de memória (Stunz e Bishop, 2014).

As células T, que recebem esse nome por se desenvolverem no timo, tem como principais funções em resposta a antígenos estranhos: controlar, suprimir, quando necessário, e ativar a resposta imune e inflamatória, fazendo isso por meio da liberação de citocinas e da comunicação célula-célula; e combater células infectadas por vírus, identificadas como estranhas e tumores. Essas células compreendem cerca de 60 a 80% de todos os linfócitos do sangue. No início foram diferenciadas das células B devido a sua capacidade de se ligar à hemácias de carneiro por meio da molécula CD2 e formar roseta (Lintermans, Stegeman *et al.*, 2014).

1.2 Citocinas

As citocinas são proteínas secretadas por células de defesa, atuando tanto na imunidade inata quanto na imunidade adquirida. São uma forma de resposta a antígenos e microrganismos, além de serem importantes no crescimento e na diferenciação de linfócitos. Normalmente tem seu nome baseado nas células que

lhes originaram, um exemplo são as linfocinas, que são citocinas advindas dos linfócitos. As citocinas que são advindas de leucócitos e que também atuam sobre eles recebem o nome de interleucinas (Endele, Etzrodt *et al.*, 2014).

As citocinas apresentam características próprias. São polipetídeos originados nas respostas a antígenos e microrganismos, e regulam reações inflamatória e imunes. Uma peculiaridade dessas moléculas é que elas não são produzidas e armazenadas por um longo período, a produção e liberação de citocinas atende às demandas pontuais e momentâneas, sua ativação se dá por processo transcricional realizado por RNAs mensageiros (Sundberg, Xavier *et al.*, 2014).

As citocinas tem a capacidade de agir sobre um grande número de células, isso é extremamente interessante na atuação em virtude e prol da resposta imune, mas pode inviabilizar seu uso terapêutico. Além disso as citocinas se auto regulam, hora agindo sobre as próprias células que lhes deram origem, hora agindo sobre as demais células (Tao, Wang *et al.*, 2014).

Outro papel dual das citocinas é que hora estas se comportam como mediadoras da imunidade imune e inata e hora como reguladoras dessas mesmas respostas (Bashashati, Rezaei *et al.*, 2014).

1.3 A interleucina 6

A interleucina 6 (IL-6) é uma importante citocina na resposta inflamatória. Tem papel importante na ativação de linfócitos B e age em conjunto com outros reguladores da resposta imune, inclusive outras citocinas, como por exemplo a interleucina 3. A IL-6 é constituinte tanto da imunidade adquirida como da imunidade inata, nesta a IL-6 estimula a produção de proteínas hepáticas como a amilóide A e o fibrinogênio, enquanto que na imunidade adquirida o papel da IL-6 é mais de estimular os linfócitos B. Em contraposição ao exercício, a IL-6 foi importante para a sensação de fadiga em pessoas que se exercitavam (Tanaka, Narazaki *et al.*, 2014).

A IL-6 possui atividade sistêmica e está relacionada com mais de um fator e com mais de uma resposta a determinado estímulo, condição ou ambiente. Já existe

relação da IL-6 com o níveis de exercício praticado pelas pessoas, com a fadiga, com o tecido adiposo, cérebro e também com a musculatura esquelética (Calabrese e Rose-John, 2014).

Quando se fala em exercício e IL-6, o segundo está para o primeiro em forma de resposta e regulação de componentes da fase aguda, inclusive na síntese proteica hepática e na liberação de glicocorticóides. Foi observado que em exercícios concêntricos, como é o caso do ciclismo, a liberação de IL-6 aconteceu de forma menos pronunciada que após a prática de exercícios excêntricos, como é o caso da corrida (Bienso, Knudsen *et al.*, 2014).

A constatação elucidada entre a IL-6 e o tecido adiposo é que este último também secreta essa citocina durante o exercício e não só células imunes, como por muito tempo foi pensado. A IL-6 nesse caso foi importante na modulação do metabolismo lipídico, ajudando na oxidação de gorduras e reesterificação de ácidos graxos (Krautbauer, Eisinger *et al.*, 2014).

No cérebro em repouso ou situação de homeostasia, entenda como a não presença de inflamação, hipóxia ou lesão cerebral, no há liberação de IL-6, entretanto quando não há essa situação homeostásica ou após exercício prolongado há uma pequena quantidade de IL-6 liberada no cérebro, no caso de exercícios se há uma segunda sessão ou rotina essa liberação pode ser até cinco vezes maior que a primeira, apesar disso esses valores ainda não se assemelham aos liberados na musculatura esquelética(Li, Liu *et al.*, 2014).

A musculatura esquelética é a principal fonte secretora de IL-6 durante o exercício, aumentando as concentrações plasmáticas desta interleucina. O nível máximo de IL-6 é atingido logo após o exercício e antes do começo das microrupturas das miofibrilas que são induzidas pelo exercício (Bienso, Knudsen *et al.*, 2014).

A IL-6 é uma citocina que está intimamente relacionada com a resposta inflamatória, principalmente com a síntese da proteína C reativa durante o processo de inflamação, e que tem ações e funções difundidas, podendo variar a depender do local averiguado e da situação a ser analisada. É relevante deixar claro que a IL-6 não desenvolve suas ações sozinhas, mas que ela pode ser vista como uma ponte

entre um aparato ou maquinário celular que a antecedeu e as respostas que irão surgir depois que as sinalizações forem feitas e concluídas (Puchner e Bluml, 2014).

1.4 Polimorfismo e gene da IL-6

Tanto a genética quanto os fatores ambientais poderão exercer algum tipo de influência sobre os níveis basais de citocinas. Cada vez mais é avaliado se essas variações podem estar ou não relacionadas com o surgimento e/ou desenvolvimento de algumas doenças. Dentro dessas variações genéticas, os polimorfismos presentes nas regiões codantes e não codantes tem cada vez mais feito parte de tais estudos (Ataie-Kachoe, Pourgholami *et al.*, 2014).

O comportamento do gene sob a presença do polimorfismo e a distribuição desse polimorfismo na população estudada são o foco da pesquisa sobre variação genética. No estudo do polimorfismo genético, as formas de polimorfismo que mais se destacarão são: o polimorfismo de base única (SNPs - Single Nucleotide Polymorphism), o polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR - *Variable Number Tandem Repeat*) e os microssatélites (STRs - Short Tandem Repeat) (Filoglu, Bulbul *et al.*, 2014).

Em alguns dos tipos de polimorfismos citados acontece a substituição de um aminoácido na cadeia proteica, no caso das citocinas essa substituição é ainda mais específica, ela acontece preferencialmente na região promotora do gene, que é a fita 3', o que quer dizer que mesmo as regiões não traduzidas podem exercer influência sobre a expressão gênica. Dentro das citocinas, as interleucinas quando na presença de polimorfismo podem ter desregulação em seus níveis basais, modulando assim a resposta inflamatória (Tillmar e Mostad, 2014).

A IL-6 já foi estudada e relacionada com o aumento dos lipídeos do sangue e da pressão arterial, com a regulação do metabolismo ósseo (Ni, Li *et al.*, 2014) e estimulação de osteoclastos, doenças reumáticas, com a doença de Castleman, síndrome de Sjörger, esclerose sistêmica associada à fibrose pulmonar, linfoma de Hodgkin, tuberculose e doenças cardiovasculares (Sun, Wu *et al.*, 2014).

Quando se fala de IL-6, o polimorfismo mais estudado é o polimorfismo da região promotora, na altura do par de base -174. Dentro desses estudos ainda há controvérsias sobre qual genótipo exerce maior influência sobre as patologias estudadas, fato curioso é que apesar de tanto o genótipo GG quanto o genótipo CC já terem sido considerados fatores de risco para tais patologias, o genótipo GG exerce esse papel na maior parte dos casos (Ni, Li *et al.*, 2014).

1.5 Acidente Vascular Encefálico

Vive-se hoje uma mudança no cenário mundial quando se fala em doenças ou males que atingem a população. Apesar de atualmente existirem registros de mortalidade associada às questões de vigilância ambiental estes se restringem a poucos lugares em que as estratégias de saneamento ambiental ainda não foram efetivas, e portanto infecções dos mais diversos tipos e devido as mais diversas causas e doenças que ao longo dos anos vem sendo erradicadas e controladas (Tucker Edmonds, Mckenzie *et al.*, 2014).

Sendo assim, hoje as pessoas vivem mais, têm uma melhor qualidade de vida, um acesso mais amplo a saúde, e esses fatos tornam as doenças crônicas cada vez mais comuns.

Hábitos de vida, alimentação, a hostilidade do ambiente e a genética são fatores que podem contribuir ou não para o desenvolvimento de doenças nos indivíduos. O acidente vascular encefálico (AVE) não representa exceção a essa regra e hoje tenta-se desvendar quais os fatores que podem contribuir e os que podem diminuir a chance desse acontecimento. Atualmente, os acidentes vasculares encefálicos são rotineiramente presenciados em ambiente emergencial em hospitais e é a primeira causa de morte no Brasil (Fernandes, Bensenor *et al.*, 2014) .

Resumidamente, o AVE é a falta de subsídio sanguíneo em uma dada região cerebral que pode ser ocasionada pela ruptura ou obstrução arterial. Classifica-se o AVE em dois tipos, e são eles: isquêmico e hemorrágico. O AVE isquêmico é caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo a determinada região cerebral, aqui essa interrupção vai acontecer devido a presença de um trombo, que é um

processo inadequado de coagulação sanguínea, na artéria ou na veia, pela presença de um êmbolo, coágulo de sangue com agregados bacterianos e células inflamatórias (Bath e Krishnan, 2014).

O AVE hemorrágico é quando há rompimento de vasos sanguíneos localizados no cérebro e nesse tipo de AVE há hemorragia cerebral e contração dos vasos remanescentes, tornando deficiente o subsídio sanguíneo para manutenção da homeostase em determinadas regiões cerebrais (Vagal, Khatri *et al.*, 2014).

Atualmente, o diagnóstico de AVE é dado com base no histórico clínico do paciente e com o auxílio da tomografia computadorizada. Os sintomas do AVE podem ser vários e estão relacionados com diferentes áreas do cérebro, é comum que haja alteração neurológica podendo interferir na fala, visão, cognição, sensibilidade, no equilíbrio e nos movimentos (Neto, Neville *et al.*, 2014).

Embora ainda não seja um conhecimento muito disseminado, existe a prevenção para o AVE e ela é tão importante quanto o diagnóstico. A prevenção acontece em duas frentes: a frente primária é composta pela avaliação, identificação e controle dos fatores de risco para o AVE; a secundária está mais relacionada com a elucidação de possíveis determinantes para a recorrência e mortalidade do evento (Bath e Krishnan, 2014).

Os casos de AVE não são distribuídos uniformemente pelo mundo, os números variam de região pra região, de sociedade pra sociedade, de costume pra costume, de hábitos de vida para hábitos de vida. O AVE está relacionado com uma série de fatores que influenciam no evento, dentro desses fatores existem aqueles que os indivíduos não exercem influência, como por exemplo sexo e idade, e fatores que podem ser controlados pelo indivíduo, como a hipertensão arterial (Baczko, Lepran *et al.*, 2014).

Vários são os fatores de risco para o acontecimento do AVE, dentre eles pode-se citar: a hipertensão arterial, o fumo, o diabetes, o colesterol e o uso de anticoncepcionais. A hipertensão arterial é a primeira causa associada ao evento do AVE e é ainda mais importante se associada à doenças de grandes e pequenas artérias (El-Koussy, Schroth *et al.*, 2014).

O fumo é o segundo fator de risco mais importante relacionado ao evento do AVE, aumentando a chance do acontecimento de infarto intracerebral. Já os anticoncepcionais orais estão relacionados com população de mulheres acima dos 35 anos fumantes, que tem histórico de enxaqueca ou hipertensão arterial anos e o evento mais comum nesses casos é o AVE isquêmico. É importante falar de fumo e de anticoncepcionais ao mesmo tempo pois na própria literatura há controvérsias se o uso de anticoncepcionais com baixa dosagem de estrogênio e o fumo são realmente fatores de risco para esse evento (Cai, Cui *et al.*, 2014).

O colesterol se apresenta como fator de risco a medida que não está extremamente ajustado dentro de suas concentrações limites, isto que significa que tanto se presente em valores abaixo do recomendado como acima do recomendado pode interferir e influenciar no evento do AVE. Concentrações muito baixas de colesterol atuam como fator de risco para a hemorragia cerebral, enquanto que concentrações altas são fatores de risco para o infarto cerebral (Sultan, Schupf *et al.*, 2014).

Há um tipo particular de AVE, o subaracnóide, que também é muito estudado, o aneurisma. O aneurisma é, grosseiramente, a má formação arterial, fazendo com que a parede da artéria seja mais grossa e fraca, ocasionando o rompimento da mesma. Apesar dessa definição, aneurismas também podem acontecer em veias e o local mais suscetível ao acontecimento dos aneurismas são as bifurcações de artérias e veias. Estima-se que até 80% dos AVEs tem como evento primário os aneurismas (Wiwanitkit, 2014).

Os aneurismas podem ser classificados quanto a sua causa, lesão que os originaram ou quanto a sua conformação geométrica. Quanto a lesão os aneurismas são subdivididos em: arterioscleróticos, que são os aneurismas decorrentes de casos de arteriosclerose avançada; e congênitos e infecciosos, esses são os aneurismas que a fragilidade na parede arterial ou vascular é fruto de infecções diversas (Haji, Van Adel *et al.*, 2014).

Quanto a conformação volumétrica, a classificação dos aneurismas é: saculares, são os aneurismas em que ocorre a dilatação das três camadas do setor da parede, em que há presença de um pequeno globo, esse tipo de aneurisma é comum nas bifurcações e nas áreas curvilíneas; fusiformes, aneurismas em que há

dilatação nas três camadas da parede em forma de losango; e dissecantes, que são os aneurismas formados quando há um distanciamento da camada mais interna da parede da artéria, a túnica íntima, da camada média e o sangue se infiltra nesse espaço por um tipo de canal paralelo (Bansal, Chaudhary *et al.*, 2014).

2 JUSTIFICATIVA

O acidente vascular encefálico (AVE) é considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) a terceira causa de morte no mundo. No Brasil muitos são os casos de entradas de pacientes nos devido ao AVE.

A hipertensão e a idade são os dois maiores fatores de risco para o AVE, sendo este um fator de risco não modificável e aquele um fator de risco modificável. A principal causa para a ocorrência do AVE é pela ruptura e/ou interrupção do fluxo de sangue nos vasos, entre outros fatores devido a trombose ou embolia. Tendo isso como fator motivador, tal trabalho se atentará ao AVE oriundo da ruptura de vasos, que é chamado de hemorrágico, e uma de suas variações, a subaracnóide, que é oriunda da formação dos vasos e é popularmente conhecida como aneurisma.

A genética tem conquistado cada vez mais espaço na área de diagnóstico e de elucidação das doenças. Estudar polimorfismos gênicos é uma das formas de caracterizar uma doença em determinada amostra populacional.

Aqui este trabalho se lança a investigar e tentar elucidar se há ou não algum tipo de relação entre o polimorfismo da interleucina-6 e o AVE, ou esta citocina e o aneurisma intracerebral. Os fins deste estudo podem contribuir para o desenvolvimento de diagnósticos, tratamento e provável identificação de um possível grupo de risco.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral:*

Identificar polimorfismos no gene da IL-6 e sua possível associação com acidente vascular encefálico hemorrágico e ao aneurisma intracerebral.

3.2 *Objetivos Específicos:*

3.2.1. Identificar a frequência do polimorfismo na região promotora -174 em indivíduos portadores de acidente vascular encefálico hemorrágico e/ou aneurisma intracerebral atendidos por um hospital do Distrito Federal- Brasil;

3.2.2. Comparar estas frequências gênicas com aquelas observadas em indivíduos não portadores de doenças crônicas, habitantes da mesma região, e promover, desta forma, a partir daí desenvolver um estudo de caso-controle;

3.2.3. Investigar aspectos epidemiológicos e clínicos dos pacientes portadores da patologia e compará-los com indivíduos do grupo controle, quando for o caso.

4 METODOLOGIA

4.1 *Aprovação em comitê de ética de pesquisa e ficha de avaliação clínica*

Após a aprovação do projeto (ANEXO A), os dados pessoais dos participantes da pesquisa foram obtidos por meio do preenchimento de uma ficha de identificação específica (ANEXO B). Esta ficha abrangia as seguintes variáveis: idade, sexo, cor, estado civil, data do registro da patologia estudada, presença de hipertensão arterial, diabetes, tabagismo, etilismo. Parâmetros bioquímicos e celulares foram anotados, exemplos: uréia, creatinina e plaquetas. Foram armazenados também a informação sobre a escala de Glasgow, Escala de Rankin, Escala de NIHSS, índice de Bartel, ICH. Além disto, a investigação por neuroimagem da por tomografia e angiografia também foram adquiridas dos prontuários, sendo que a angiografia pode ser útil para investigar as causas vasculares.

É importante elucidar o que são tais escalas e como são usadas. No ambiente da emergência, a avaliação neurológica deve abranger principalmente a gravidade do AVC, o seu tipo e sua localização, dado que exames neurológicos extensos são inexecutáveis.

A escala de Rankin (ERm) é um instrumento de mensuração da incapacidade (*disability*) que tem sido amplamente utilizado na avaliação da recuperação neurológica e como *end-point* primário (prognóstico) em estudos clínicos para o tratamento do AVC (acidente vascular cerebral). A versão mais atual dessa escala é uma adaptação da escala de Rankin e consiste de 6 categorias que vão do 0 a 5, sendo que, eventualmente, agrega-se o score 6 (óbito) em estudos clínicos. Resumidamente, a escala avalia a capacidade do indivíduo em realizar as atividades de vida diária. A escala é essencialmente baseada na incapacidade global (em particular a incapacidade física) e na necessidade de assistência para realizar atividades instrumentais e básicas da vida diária com ênfase no comprometimento motor. Ela pode ser aplicada por qualquer profissional da área da saúde, possuindo moderada confiabilidade entre observadores. Na figura 1, tem-se a graduação da respectiva escala.

Score	Classificação	Descrição
0	<i>Assintomático .</i>	Regressão dos sintomas.
1	<i>Sintomas sem incapacidade.</i>	Capaz de realizar suas tarefas e atividades habituais prévias.
2	<i>Incapacidade leve.</i>	Incapaz de realizar todas suas atividades habituais prévias, mas capaz de realizar suas necessidades pessoais sem ajuda.
3	<i>Incapacidade moderada.</i>	Requer alguma ajuda para as suas atividades, mas é capaz de andar sem ajuda de outra pessoa.
4	<i>Incapacidade moderada a grave.</i>	Incapacidade de andar sem ajuda, incapacidade de realizar suas atividades sem ajuda.
5	<i>Incapacidade grave .</i>	Limitado a cama, incontinência, requer cuidados de enfermeiros e atenção constante.
6	<i>Óbito .</i>	

Figura 1- A escala de Rankin (ERm)- Score; classificação; descrição

Fonte: <http://www.einstein.br/Hospital/neurologia/indicadores/Paginas/escala-modificada-de-rankin.aspx>

O Índice de Barthel (IB) é uma escala de incapacidade (*Disability*) que mensura 10 aspectos básicos da atividade diária relacionados à mobilidade e aos cuidados pessoais, tais como: alimentação, higiene pessoal, controle dos esfíncteres vesical e intestinal, independência no banheiro, transferência da cadeira, marcha e capacidade para subir escadas. Tem sido bastante utilizada como medida de prognóstico pós-AVC, porém também é utilizada para avaliação de outras desordens neurológicas. O escore normal é de 100 (máximo), com pontuações indicando o grau de dependência sendo que abaixo de 50 significa dependência.

O IB pode ser avaliado de duas maneiras: (a) Quanto à classificação prognóstica - Grupo I: 0 a 45 pontos= incapacidade severa; Grupo II: 50 a 70 pontos=moderada; Grupo III: 75 a 95 pontos=leve e Grupo IV: 100pontos=independência funcional; (b) Quanto à agrupamentos funcionais - Grupo A: auto-cuidados (itens 1 a 7: alimentação, banho, apresentação pessoal, vestir, cuidados com intestinos e bexiga, e uso do banheiro) e Grupo B: mobilidade (itens 8 a 10: deambulação, transferência do leito para cadeira e subir escadas).

A *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) é uma escala padrão, validada, e quantitativa da severidade e magnitude do déficit neurológico após o AVC e deve ser realizada antes de eventual terapia fibrinolítica. Esta escala baseia-se em 11 itens do exame neurológico que são comumente afetados pelo AVC, sendo eles: nível de consciência, desvio ocular, paresia facial, linguagem, fala, negligência/extinção, função motora e sensitiva dos membros e ataxia. Ela foi desenvolvida para ser aplicada rapidamente (5 – 8 minutos), no contexto do tratamento de pacientes com AVC agudo. A NIHSS pode ter sua pontuação variando de 0 (sem evidência de déficit neurológico pela esfera testada na escala) a 42 (paciente em coma e irresponsivo) . Dos 42 possíveis pontos na NIHSS, 7 pontos são diretamente relacionados com a linguagem (orientação 2, comandos 2, afasia 3) e somente 2 pontos relativos a negligência (Martin-Schild, Albright *et al.*, 2011).

A escala de AVC do NIH auxilia no seguimento neurológico e na decisão terapêutica: pacientes com menos de 4 pontos têm déficits leves (ou em melhora), não sendo candidatos a terapia com ativador de plasminogênio tissular recombinante (rtPA) (exceção: afasia grave isolada ou hemianopsia completa) e pacientes com mais de 22 pontos têm um alto risco de desenvolver hemorragia sintomática, requerendo avaliação caso a caso. Apesar de críticas ao seu uso, sugere-se também a utilização da escala de coma de Glasgow para auxílio no segmento do exame neurológico (Kwah e Diong, 2014).

A escala de coma de Glasgow (ECG) é uma escala neurológica que representa um método confiável para registrar o nível de consciência de um indivíduo, com intuito da avaliação inicial e contínua após um traumatismo craniano. Seu valor também é utilizado no prognóstico do paciente e é de grande utilidade na previsão de sequelas casuais. Inicialmente usado para avaliar o nível de consciência depois de trauma encefálico, a escala é atualmente aplicada a diversas circunstâncias (Barlow, 2012). A interpretação desta escala está aqui descrita: 3 = Coma profundo; (85% de probabilidade de morte); 4 = Coma profundo; 7 = Coma intermediário; 11 = Coma superficial; 15 = Normalidade.

As escalas para análise de hemorragia intracerebral espontânea visam o entendimento fisiopatológico da doença, determinam a mortalidade e dependência funcional. Modelos matemáticos utilizando regressão logística identificam variáveis clínicas e tomográficas. As associações destas variáveis constituem ferramentas

úteis nas unidades de emergência para uma compreensão global de um paciente portador de doença cerebrovascular. Em 2001, foi proposta a escala "ICH Score" que associa variáveis clínicas e tomográficas. Esta escala apresenta acurácia na determinação da mortalidade como do bom prognóstico funcional. A pontuação é determinada por cinco componentes relacionados ao resultado após hemorragia intracerebral espontânea (SICH): Escala de Glasgow Outcome (GOS), volume ICH, presença de hemorragia intraventricular, origem infratentoriais e idade. A pontuação total ICH é a soma desses pontos, que variam de zero a seis, sendo que um escore de 6 indica alto risco de mortalidade (Wang, Lu *et al.*, 2013)

4.2 Coleta de material para análise de Patologia Molecular clínica

O único procedimento a que os participantes foram submetidos foi a coleta de aproximadamente 10 mL de sangue por meio de punção de veia periférica, com material novo e descartável. A coleta de sangue foi realizada pela enfermeira chefe do setor de Neurocirurgia do Hospital de Base de Brasília, Hélia Sousa, responsável pelo projeto de pesquisa.

O material biológico, no caso o sangue, dos participantes foi levado ao Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Bioprospecção e Neurociências (Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília), onde foi estocado sob a guarda da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari para realização da extração do DNA das amostras e os exames para verificação dos polimorfismos genéticos, também foi fracionado com o Laboratório de Análises Clínicas da FCE sob supervisão da professora Dra Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

4.3 Participantes da pesquisa

Os participantes da pesquisa foram divididos em dois grupos, grupo caso e grupo controle. O grupo caso teve como critérios de inclusão pacientes de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, com diagnóstico de AVEH (n = 22) e aneurisma intracerebral (n = 20). Os critérios de exclusão deste grupo foram idade, neste caso indivíduos menores de 18 anos, indivíduos que não apresentaram diagnóstico de

AVEH e/ou aneurisma intracerebral, indivíduos que não desejaram participar da pesquisa ou representantes legais que não consentiram em participar.

O grupo controle teve como critérios de inclusão indivíduos (n = 16) de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, sem histórico de AVEH e aneurisma intracerebral, não aparentados dos pacientes do grupo caso. Os critérios de exclusão foram idade, aqui indivíduos menores de 18 anos, parentes de indivíduos com AVEH e/ou aneurisma intracerebral, indivíduos que não desejaram participar da pesquisa.

4.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes do presente estudo caso tenham condições de compreender e assinar o TCLE. Se os pacientes não apresentaram condições clínicas devido à sua patologia, foi solicitado o TCLE do responsável legal dos pacientes. Foi também obtido um TCLE de indivíduos sem as patologias a serem estudadas, que farão parte do grupo controle (Anexo C).

Antes da coleta do material, ocorreram esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos. Aos sujeitos de pesquisa foi oferecida a opção de escolher entre serem informados ou não sobre resultados de seus exames.

4.5 Termo de Guarda de Material Biológico

O Termo de Guarda de Material Biológico foi obtido de todos os participantes do presente estudo (Anexo D).

Aos sujeitos de pesquisa foi dada a possibilidade de autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais biológicos coletados no âmbito da pesquisa. Todo indivíduo terá acesso a seus dados genéticos, assim como terá o direito de retirá-los do banco onde se encontram armazenados, a qualquer momento.

4.6 Procedimentos técnicos e laboratoriais

4.6.1 Extração de DNA

O kit usado para a extração do DNA foi o *Invisorb Spin Blood Mini Kit (250)* da empresa Invitek (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300). A concentração de DNA foi determinada em corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/ μ L.

4.6.2 PCR (Reação em cadeia da Polimerase) Qualitativo

As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar o polimorfismo IL-6 G/C (rs549908/ rs1946518, trata-se de um SNP) foram (fabricante: IDT Technologies):

Senso 5'-ATGCCAAAGTGCTGAGTCAC-3'

Antisenso 5'-TCTTTGTTGGAGGGTGAGGG-3'

A amplificação foi realizada com o seguinte protocolo: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos constituídos por desnaturação a 94°C por 60 segundos, anelamento a 55°C por 60 segundos e extensão a 72°C por 50 segundos, além de uma extensão final a 72°C por 7 minutos. O equipamento utilizado foi termociclador Techne modelo TC-512.

Em cada reação, foram utilizados 4,0 μ L de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/ μ L; 2,5 μ L de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5 μ L de MgCl₂ (Fermentas), 0,5 μ L de dNTPs (2,5mM; LGC); 0,5 μ L de Taq-Polimerase (Fermentas, 5U/ μ L); 1,5 μ L de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10 μ M); completando com água Milli-Q para um volume final de 25 μ L por reação.

O produto desta PCR é um fragmento de 208 pb.

4.6.3 Digestão enzimática

O produto da PCR foi digerido utilizando a enzima de restrição NlaIII (BioLabs, New England) (4 UI) a 37°C por 12 horas. A digestão foi evidenciada em gel de agarose a 3% com BE. A presença do alelo 1 (-174G) produziu um fragmento de 208bp e do alelo 2 (-174C) dois fragmentos de 123 e 85bp cada.

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

4.7 Análise estatística

4.7.1 Estimativa das frequências genotípicas

As frequências genotípicas foram contabilizadas por meio da contagem direta, utilizando o programa SPSS versão 20.0. A comparação das distribuições dessas frequências foi feita por meio das aplicações dos testes qui-quadrado e ANOVA com pós teste de Tukey, de forma a detectar possíveis associações dos genótipos entre os grupos avaliados, grupo caso e grupo controle. Foram consideradas associações com probabilidades menores que 5% ($P < 0,05$).

4.7.2 Análise dos dados dos sujeitos de pesquisa.

Também foram estimadas as frequências de características dos sujeitos de pesquisa, considerando: sexo, tabagismo, etilismo, presença de hipertensão arterial (HAS), e diabetes; por outro lado, as variáveis quantitativas idade e glicemia foram descritas em termos de suas estatísticas-resumo (média e erro padrão).

Subsequente a isso, as características clínicas do grupo controle foram descritas estatisticamente, seguindo como exemplo as escalas de Glasgow, Rankin e NIHSS; o Índice de Bartel; e exames laboratoriais tais como os exames bioquímicos, tomografia e angiografia.

Para todas estas variáveis, a comparação das distribuições das frequências, foi aplicado o teste do qui-quadrado; ANOVA com pós teste de Tukey, e teste T de Student, para comparação de médias, observadas as pressuposições de normalidade. Foram consideradas associações e diferenças com probabilidades menores que 5% ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 *Características dos sujeitos*

Na tabela 2 estão descritas características dos sujeitos de pesquisa analisados conforme o grupo. Foi observado que, em relação ao sexo, 8 sujeitos do grupo controle (50,0%) eram homens, e que esta distribuição percentual não era diferente estatisticamente ($P = 0,833$) dos demais grupos: AVEH (45,5%), Aneurisma (40,0%). A diferença estatística não foi observada também na distribuição da presença de diabetes (apenas dois indivíduos – 10,0% - com aneurisma eram portadores da doença crônica, $P = 0,140$); do hábito de fumar (31,3% do grupo controle; 45,5% do grupo AVEH e 40,0% do grupo aneurisma, $P = 0,676$); e da ingestão de bebidas alcoólicas (25,0%; 36,6%; e 10,0%; respectivamente, $P = 0,136$). Porém, a presença de hipertensão arterial (HAS) era a diferença marcante entre os grupos, sendo apenas 12,5% dos sujeitos do grupo controle eram portadores desta característica, contra 72,7% dos sujeitos com AVEH e 75% dos sujeitos pertencentes do grupo aneurisma ($P = 0,000$).

Para a análise das características quantitativas dos sujeitos, construiu-se a tabela 3. Não observada uma diferença significativa na proporção de indivíduos com relação à idade ($P = 0,057$), e, portanto, os sujeitos do grupo controle, AVEH e aneurisma apresentavam, em média, a mesma idade. Neste tipo de análise foi possível notar que, todos os grupos não se diferenciaram quanto à glicemia média ($P = 0,069$).

Tabela 2- Distribuição da frequência e da porcentagem dos grupos estudados (controle, AVEH, aneurisma, AVEH) segundo o sexo, presença de HAS e diabetes, tabagismo e etilismo.

		Grupo								P
		Controle		AVEH		Aneurisma		Total		
		N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo	masculino	8	50,0	10	45,5	8	40,0	26	44,8	0,833
	feminino	8	50,0	12	54,5	12	60,0	32	55,2	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	
HAS	sim	2	12,5	16	72,7	15	75,0	33	56,9	0,000*
	não	14	87,5	6	27,3	5	25,0	25	43,1	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	
Diabetes	sim	0	0,0	0	0,0	2	10,0	2	3,4	0,140
	não	16	100,0	22	100,0	18	90,0	56	96,6	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	
Tabagismo	sim	5	31,3	10	45,5	8	40,0	23	39,7	0,676
	não	11	68,8	12	54,5	12	60,0	35	60,3	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	
Etilismo	sim	4	25,0	8	36,4	2	10,0	14	24,1	0,136
	não	12	75,0	14	63,6	18	90,0	44	75,9	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	

*diferença estatística (P<0,005); teste qui-quadrado

Tabela 3- Estatísticas-resumo (média e erro padrão) da idade e glicemia dos grupos controle, AVEH e aneurisma.

	Grupo								P [#]
	Controle		AVEH		Aneurisma		Total		
	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	
Idade	56	2	56	2	51	2	54	1	0,057
Glicose (mg/dL)	99	2	113	6	119	6	111	3	0,069

[#]Conforme o teste estatístico ANOVA.

Na tabela 4, avalia-se a diferença na proporção de indivíduos nas escalas: Glasgow, Rankin, NIHSS e Barthel. Não foi observada diferença na proporção de indivíduos entre os grupos. Em relação às escalas, foi possível verificar que a maioria dos indivíduos foi considerada em normalidade, conforme a escala de Glasgow (sendo que apenas dois indivíduos com AVE apresentava como intermediário; quanto à avaliação funcional, em conformidade com a escala de

Rankin, observou-se que mais da metade dos indivíduos em cada grupo, apresentavam, no máximo uma incapacidade leve, sendo, portanto, capazes de realizar suas necessidades especiais). Porém, pelo índice de Barthel, para os grupos AVEH. 22,5% dos indivíduos apresentou incapacidade severa para realizar aspectos básicos da atividade diária relacionada à mobilidade e aos cuidados pessoais. No entanto, pela avaliação na escala NIHSS, independente do grupo caso, 50% ou mais apresentavam menos de 4 pontos, ou seja, déficits neurológicos leves ou melhoras após AVC.

Tabela 4- Distribuição das características clínicas (escala de Glasgow, Rankin, NIHSS, Barthel, nos indivíduos pertencentes aos grupo caso (AVEH e Aneurisma).

Características clínicas	Grupo						P	
	AVEH		Aneurisma		Total			
	N	%	N	%	N	%		
Escala de Glasgow	8	1	4,5	0	0,0	1	2,4	0,271
	9	1	4,5	0	0,0	1	2,4	
	12	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	13	1	4,5	0	0,0	1	2,4	
	15	17	77,3	20	100,0	37	88,1	
Escala de Rankin	0	6	27,3	2	10,0	8	19,0	0,069
	1	9	40,9	16	80,0	25	59,5	
	2	1	4,5	0	0,0	1	2,4	
	3	1	4,5	2	10,0	3	7,1	
	4	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	5	3	13,6	0	0,0	3	7,1	
Escala NIHSS	0	8	36,4	8	40,0	16	38,1	0,257
	1	0	0,0	2	10,0	2	4,8	
	2	3	13,6	4	20,0	7	16,7	
	3	4	18,2	2	10,0	6	14,3	
	4	3	13,6	2	10,0	5	11,9	
	6	0	0,0	2	10,0	2	4,8	
	18	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	20	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
Índice de Barthel	0	1	4,5	0	0,0	1	2,4	0,053
	2	1	4,5	0	0,0	1	2,4	
	10	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	40	1	4,5	0	0,0	1	2,4	
	70	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	73	2	9,1	0	0,0	2	4,8	
	80	1	4,5	6	30,0	7	16,7	
	90	2	9,1	2	10,0	4	9,5	
	95	0	0,0	4	20,0	4	9,5	
	100	10	45,5	8	40,0	18	42,9	

Com relação aos parâmetros bioquímicos e celulares, a tabela 5 avalia a diferença média de indivíduos dos grupos caso quanto à glicose, creatinina e plaquetas. Quanto às plaquetas há uma diferença significativa, já que $P < 0,05$.

Tabela 5- Estatísticas-resumo (média, erro padrão e mediana) da glicemia, creatinina e plaquetas dos grupos AVEH, aneurisma e AVEH-aneurisma.

	Grupo						P
	AVEH		Aneurisma		Total		
	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	
Glicose (mg/dL)	113	6	119	6	115	4	0,530
Creatinina (mg/dL)	0,77	0,04	1,79	0,62	1,24	0,29	0,085
Plaquetas (X100.000 mm ³)	284	22	345	20	312	16	0,049*

*Diferença estatística, teste ANOVA

5.2 Análise do polimorfismo -174 G/C na região promotora do gene da IL-6

As frequências genóticas estão apresentadas na tabela 6. Foi observado em relação genótipo GG, ausência de sujeitos no grupo controle, mas 63,6% no grupo AVEH e 35,0% no grupo aneurisma. Quando se divide os sujeitos em grupos caso (aneurisma ou AVEH) e controle, é possível checar a forte associação estatística de GG e os portadores de distúrbio circulatório, com 50,0% dos casos sendo portadores deste genótipo (tabela 7)

Tabela 6- Distribuição das frequências genótípicas do polimorfismo -174 G/C do gene IL-6 nos diferentes grupos (controle, AVEH e aneurisma)

		Grupo								P
		Controle		AVEH		Aneurisma		Total		
		N	%	N	%	N	%	N	%	
IL6 -174G/C	GG	0	0,0	14	63,6	7	35,0	21	36,2	0,000*
	GC	6	37,5	7	31,8	8	40,0	21	36,2	
	CC	10	62,5	1	4,5	5	25,0	16	27,6	
	Total	16	100,0	22	100,0	20	100,0	58	100,0	

* Associação estatística, teste qui-quadrado

A tabela 7 avalia as frequências e genótípicas do grupo controle e do grupo caso em que se enquadram pacientes com AVEH ou aneurisma.

Tabela 7- Distribuição das frequências genótípicas do polimorfismo -174 G/C do gene IL-6 nos diferentes grupos (controle e caso- AVEH e aneurisma).

		Grupo						P
		Caso (AVEH/Aneurisma)		Controle		Total		
		N	%	N	%	N	%	
IL6 -174G/C	GG	21	50,0	0	0,0	21	36,2	0,000*
	GC	15	35,7	6	37,5	21	36,2	
	CC	6	14,3	10	62,5	16	27,6	
	Total	42	100,0	16	100,0	58	100,0	

* Associação estatística, teste qui-quadrado

6 DISCUSSÃO

O aneurisma cerebral é descrito como patologia de origem multifatorial, e acredita-se que a inflamação dos vasos tem contribuição substancial para o desenvolvimento deste acometimento. Uma citocina pode ter papel fundamental nessa história, a IL-6, já que participa da síntese de proteínas na fase aguda da inflamação (Puchner e Bluml, 2014).

Pontualmente, a IL-6 é um potente vasoconstritor local na artéria canina. Assim a IL-6 pode causar isquemia indireta associada a vasoespasmos em resposta ao aneurisma intracerebral, podendo causar danos cerebrais, já que possui potentes efeitos citotóxicos na massa branca do cérebro. Provavelmente essa citocina influencia no resultado do aneurisma intracerebral, níveis altos de IL-6 estão relacionados com desfechos neurológicos ruins. Em pacientes no período pós-operatório a IL-6 foi encontrada na veia jugular de pacientes até 14 dias após a intervenção cirúrgica (Bharosay, Saxena *et al.*, 2011; Ayzenberg, Kleiter *et al.*, 2013).

Os polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) são comuns entre os seres humanos, com uma incidência de 1% na população. Estas variantes genéticas são influenciadas por muitos fatores, dentre eles, a etnia e meio ambiente (Weng, Huang *et al.*, 2014). A identificação de associações entre SNPs e a presença de patologia é crítica para o desenvolvimento de novos tratamentos e como medida de prevenção (identificação de fator de risco genético) para uma série de doenças que acometem os humanos (Besiroglu, Sahin *et al.*, 2014; Cai, Zeng *et al.*, 2014)

No atual estudo, um polimorfismo da IL-6, o -174G/C foi fortemente associados com a presença de aneurisma e AVEH.

Um estudo mostrou que os alelos -174G/572C foram associados como fatores de risco para o aneurisma cerebral, enquanto que os alelos -174C/572G foram associados como fatores de proteção. Até então dois polimorfismos foram identificados na IL-6, -174G.C e -572G.C, ambos são polimorfismos de nucleotídeo único. Os dois alelos têm sido relacionados com a IL-6 no quadro inflamatório (Jeremic, Alempijevic *et al.*, 2014). O alelo -174C tem sido associado com um maior

risco de doenças cardiovasculares (Tuttolomondo, Di Raimondo *et al.*, 2012; Yin, Li *et al.*, 2013).

Os polimorfismos da IL-6 têm sido estudados em desordens cerebrais decorrentes de processos inflamatórios. O alelo -174G tem sido relacionado com a doença de Alzheimer(Dai, Liu *et al.*, 2012). E os alelos -174 da IL-6 tem sido relacionados com o acidente vascular encefálico (Chakraborty, Chowdhury *et al.*, 2013). O alelo G tem sido relacionado com o aumento no risco de acidentes vasculares (Potaczek, Undas *et al.*, 2007). Como fortemente associado na literatura, estudar a presença de polimorfismos na região promotora da IL-6 pode contribuir para melhor compreensão do fenômeno.

Por outro lado, a expressão da IL-6 não está relacionada apenas ao tamanho ou gravidade do AVE, mas também a sua origem genética, isto é, pelo local polimórfico relacionados com os oito haplótipos comuns. Por outro lado, sabe-se que há limitações em avaliar somente o polimorfismos nesta região gênica (Latkovskis, Liciš *et al.*, 2012).

Estudos de associação anteriores concentraram-se em um único polimorfismo, -174 da região promotora da IL-6, mas não avaliaram outras possíveis combinações de haplótipos. Os quatro polimorfismos, no entanto, exercem um efeito cooperativo na produção de IL-6 do gene transcrito no polimorfismo presentes em haplótipos B, D, E, C, X, e G (Rivera-Chavez, Peters-Hybki *et al.*, 2003). O seu efeito na transcrição de IL-6 depende fortemente da região promotora. No entanto, dada a raridade do haplótipo(Holla, Musilova *et al.*, 2008) A, haplótipo F deve estar presente em indivíduos com o polimorfismo -174C. Estudos genéticos anteriores relataram níveis iguais ou mais baixos de indivíduos saudáveis controles com polimorfismos -174C. Em outras condições médicas, o polimorfismo -174C foi associado com concentrações séricas iguais ou maiores de IL-6 (Sen, Paine *et al.*, 2011; Lin, Feng *et al.*, 2014).

Os polimorfismo da IL-6 têm sido estudados em desordens cerebrais decorrentes de processos inflamatórios. O alelo -174G tem sido relacionado com a doença de Alzheimer. E os alelos -174 tem sido relacionados com o acidente vascular encefálico. O alelo G tem sido relacionado com o aumento no risco de acidentes vasculares.

O estudo apresenta algumas limitações. Para melhorar isso os grupos a serem estudados deveriam ser compostos de pacientes de diversas regiões do brasileiras e com frequências gênicas variadas, em relação aos alelos estudados. A baixa estratificação populacional fica evidenciada pelo grande número de polimorfismo em um único gene.

Quanto à outros aspectos clínicos, no presente estudo, o tabagismo e etilismo não tiveram frequências diferenciadas entre os grupos. Um estudo sobre o impacto da legislação anti-tabaco na Escócia verificou que a diminuição do hábito de fumar só teve impacto preventivo contra infarto cerebral, mas não em outros tipos de acidentes encefálicos (Mackay, Haw *et al.*, 2013). Em contrapartida, um estudo de acompanhamento por 20 anos, mostrou que o excesso de bebida pode estar fortemente associado ao AVE(Rantakomi, Kurl *et al.*, 2014).

Atualmente, os critérios de diagnóstico da Organização Mundial da Saúde (OMS) para diabetes são: glicose no plasma em jejum $\geq 7,0$ mmol / l (126mg/dl) ou 2-h glicose plasmática $\geq 11,1$ mmol / l (200mg/dl). Tais critérios têm como objetivo distinguir um grupo com um significativo aumento de risco microvascular e complicações cardiovasculares (Dinardo, Donihi *et al.*, 2011) A glicemia média dos sujeitos nos grupos não se encontra acima dos valores de referência para risco de diabetes, e também não demonstra diferença significativa entre os grupos.

Estudos demonstram que o nível elevado de glicose está associado a um aumento da mortalidade e prognóstico desfavorável nos pacientes com AVEH e aneurisma intracerebral (Ward, 2014)

A glicemia elevada é comum na fase inicial do AVEH. A prevalência de hiperglicemia tem sido observada em dois terços de todos os subtipos de AVE e em, pelo menos, 50% em cada subtipo. Autores defendem que a hiperglicemia tem efeitos adversos sobre o tecido, e uma associação entre a glicose no sangue e o resultado funcional do tecido tem sido encontrada em um número crescente de estudos clínicos (Yoo, Chang *et al.*, 2014)

A HAS é duas vezes mais freqüente nos diabéticos do que na população em geral, afetando 30 a 80% destes doentes (sendo que está presente em 60% dos indivíduos com acidente vascular encefálico agudo) e também é considerada um dos maiores fatores de risco para a ocorrência do AVEH e do aneurisma intracerebral (Miller, Kinni *et al.*, 2014). Tal achado se confirma nesse estudo, considerando que

houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos considerando a HAS ($P = 0,000$).

Outro fator marcante foi a diferença média do número de plaquetas dos pacientes com aneurisma. Em recente estudo, analisou-se que o aumento da pressão arterial pode provocar ultra tensão de cisalhamento sangue e procar poros nos vaso , o que poderia potencialmente ativar as plaquetas como um mecanismo de trombose do aneurisma (Xiang, Ma *et al.*, 2014).

7 CONCLUSÃO

Verificou-se, no presente estudo, que a distribuição do polimorfismo genético na região promotora do gene IL-6 em sujeitos com ao AVEH e aneurisma intracerebral, comparados com o grupo controle diferenciava estatisticamente, sendo que a frequência do alelo G associada a presença do distúrbio no grupo caso, quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, quanto aos aspectos clínicos, havia diferença na presença de hipertensão arterial (quando os casos são comparados com os controles) e número de plaquetas (observando apenas o grupo caso, os pacientes portadores de aneurisma cerebral tiveram níveis plaquetas aumentadas, embora dentro de um critério de normalidade).

Devido à amostragem reduzida, a presença do polimorfismo -174 G/C do gene da IL-6 deve ter melhor detalhamento da associação com AVEH e ao aneurisma intracerebral, em estudos caso-controle com este mesmo delineamento experimental, com um número maior de indivíduos no grupo controle e no grupo caso. Porém é digno de nota que mesmo com a amostragem reduzida, o resultado encontrado neste trabalho corrobora com dados já descritos na literatura acerca da influência deste polimorfismo neste tipo de patologia.

8 REFERÊNCIAS

ATAIE-KACHOIE, P. et al. Gene of the month: Interleukin 6 (IL-6). **J Clin Pathol**, v. 67, n. 11, p. 932-7, Nov 2014. ISSN 1472-4146 (Electronic)

0021-9746 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25031389> >.

AYZENBERG, I. et al. Interleukin 6 receptor blockade in patients with neuromyelitis optica nonresponsive to anti-CD20 therapy. **JAMA Neurol**, v. 70, n. 3, p. 394-7, Mar 1 2013. ISSN 2168-6157 (Electronic) 2168-6149 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23358868> >.

BACZKO, I. et al. Future Perspectives in the Pharmacological Treatment of Atrial Fibrillation and Ventricular Arrhythmias in Heart Failure. **Curr Pharm Des**, Oct 28 2014. ISSN 1873-4286 (Electronic) 1381-6128 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25354185> >.

BANSAL, H.; CHAUDHARY, A. K.; PAUL, B. Rare cause of recurrent stroke: bilateral cervical internal carotid artery aneurysm. **J Clin Diagn Res**, v. 8, n. 3, p. 184-5, Mar 2014. ISSN 2249-782X (Print) 0973-709X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24783130> >.

BARLOW, P. A practical review of the Glasgow Coma Scale and Score. **Surgeon**, v. 10, n. 2, p. 114-9, Apr 2012. ISSN 1479-666X (Print) 1479-666X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300893> >.

BASHASHATI, M. et al. Cytokine imbalance in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. **Neurogastroenterol Motil**, v. 26, n. 7, p. 1036-48, Jul 2014. ISSN 1365-2982 (Electronic) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24796536> >.

BATH, P. M.; KRISHNAN, K. Interventions for deliberately altering blood pressure in acute stroke. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 10, p. CD000039, 2014. ISSN 1469-493X (Electronic) 1361-6137 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25353321> >.

BESIROGLU, H. et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphisms in patients with calcium urolithiasis: a systematic review. **Ren Fail**, v. 36, n. 8, p. 1187-92, Sep 2014. ISSN 1525-6049 (Electronic) 0886-022X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25019182> >.

BHAROSAY, A. et al. Correlation between proinflammatory serum markers: high sensitivity C-reactive protein, interleukin-6 with disability score in acute ischemic stroke. **Indian J Clin Biochem**, v. 26, n. 3, p. 279-82, Jul 2011. ISSN 0974-0422 (Electronic) 0970-1915 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22754193> >.

BIENSO, R. S. et al. Effects of IL-6 on pyruvate dehydrogenase regulation in mouse skeletal muscle. **Pflugers Arch**, v. 466, n. 8, p. 1647-57, Aug 2014. ISSN 1432-2013 (Electronic) 0031-6768 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24221357> >.

CAI, L. et al. The economic burden of smoking and secondhand smoke exposure in rural South-West China. **J Asthma**, v. 51, n. 5, p. 515-21, Jun 2014. ISSN 1532-4303 (Electronic) 0277-0903 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24517111> >.

CAI, Y.; ZENG, T.; CHEN, L. Association of adiponectin polymorphisms with the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes: A meta-analysis. **J Diabetes**, May 13 2014. ISSN 1753-0407 (Electronic) 1753-0407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24825737> >.

CALABRESE, L. H.; ROSE-JOHN, S. IL-6 biology: implications for clinical targeting in rheumatic disease. **Nat Rev Rheumatol**, Aug 19 2014. ISSN 1759-4804 (Electronic) 1759-4790 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25136784> >.

CHAKRABORTY, B. et al. Interleukin-6 gene -174 G/C promoter polymorphism predicts severity and outcome in acute ischemic stroke patients from north India. **J Stroke Cerebrovasc Dis**, v. 22, n. 5, p. 683-9, Jul 2013. ISSN 1532-8511 (Electronic) 1052-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22410655> >.

DAI, L. et al. Association between polymorphism in the promoter region of Interleukin 6 (-174 G/C) and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. **J Neurol**, v. 259, n. 3, p. 414-9, Mar 2012. ISSN 1432-1459 (Electronic) 0340-5354 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21748280> >.

DINARDO, M. et al. Standardized glycemic management and perioperative glycemic outcomes in patients with diabetes mellitus who undergo same-day surgery. **Endocr Pract**, v. 17, n. 3, p. 404-11, May-Jun 2011. ISSN 1934-2403 (Electronic) 1530-891X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21247843> >.

EL-KOUSSY, M. et al. Imaging of Acute Ischemic Stroke. **Eur Neurol**, v. 72, n. 5-6, p. 309-316, Oct 14 2014. ISSN 1421-9913 (Electronic) 0014-3022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25323674> >.

ENDELE, M.; ETZRODT, M.; SCHROEDER, T. Instruction of hematopoietic lineage choice by cytokine signaling. **Exp Cell Res**, Jul 18 2014. ISSN 1090-2422 (Electronic) 0014-4827 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25046868> >.

FERNANDES, T. G. et al. Stroke in the rain forest: prevalence in a ribeirinha community and an urban population in the Brazilian Amazon. **Neuroepidemiology**, v. 42, n. 4, p. 235-42, 2014. ISSN 1423-0208 (Electronic) 0251-5350 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24903570> >.

FILOGLU, G. et al. Evaluation of reliability on STR typing at leukemic patients used for forensic purposes. **Mol Biol Rep**, v. 41, n. 6, p. 3961-72, Jun 2014. ISSN 1573-4978 (Electronic) 0301-4851 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24562624> >.

HAJI, F. et al. Intracranial aneurysm rupture following intravenous thrombolysis for stroke. **Can J Neurol Sci**, v. 41, n. 1, p. 95-8, Jan 2014. ISSN 0317-1671 (Print) 0317-1671 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24384346> >.

HANIFFA, M.; GUNAWAN, M.; JARDINE, L. Human skin dendritic cells in health and disease. **J Dermatol Sci**, Sep 10 2014. ISSN 1873-569X (Electronic) 0923-1811 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25301671> >.

HOLLA, L. I. et al. Association of interleukin-6 (IL-6) haplotypes with plaque-induced gingivitis in children. **Acta Odontol Scand**, v. 66, n. 2, p. 105-12, Apr 2008. ISSN 1502-3850 (Electronic) 0001-6357 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18446552> >.

JEREMIC, V. et al. Clinical relevance of IL-6 gene polymorphism in severely injured patients. **Bosn J Basic Med Sci**, v. 14, n. 2, p. 110-7, May 2014. ISSN 1840-4812 (Electronic) 1512-8601 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24856384> >.

KRAUTBAUER, S. et al. Free fatty acids and IL-6 induce adipocyte galectin-3 which is increased in white and brown adipose tissues of obese mice. **Cytokine**, v. 69, n. 2, p. 263-71, Oct 2014. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25043674> >.

KWAH, L. K.; DIONG, J. National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS). **J Physiother**, v. 60, n. 1, p. 61, Mar 2014. ISSN 1836-9553 (Print) 1836-9561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24856948> >.

LATKOVSKIS, G. et al. Common haplotype of interleukin-6 gene is associated with chronic total occlusions of coronary arteries. **Int Angiol**, v. 31, n. 2, p. 116-24, Apr 2012. ISSN 1827-1839 (Electronic) 0392-9590 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22466975> >.

LAZAROU, M. Keeping the immune system in check: a role for mitophagy. **Immunol Cell Biol**, v. 0, Sep 30 2014. ISSN 1440-1711 (Electronic) 0818-9641 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25267485> >.

LI, J.; LEY, K. Lymphocyte Migration into Atherosclerotic Plaque. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Oct 9 2014. ISSN 1524-4636 (Electronic) 1079-5642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25301842> >.

LI, S. J. et al. The role of TNF-alpha, IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 18, n. 6, p. 905-9, 2014. ISSN 2284-0729 (Electronic) 1128-3602 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24706318> >.

LIN, K. H. et al. Interleukin-6(-174) Locus Polymorphism and Serum IL-6 Levels in Normal Tension Glaucoma. **Ophthalmic Genet**, p. 1-3, Sep 2 2014. ISSN 1744-5094 (Electronic) 1381-6810 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25181018> >.

LINTERMANS, L. L. et al. T cells in vascular inflammatory diseases. **Front Immunol**, v. 5, p. 504, 2014. ISSN 1664-3224 (Electronic) 1664-3224 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25352848> >.

MACKAY, D. F. et al. Impact of Scotland's comprehensive, smoke-free legislation on stroke. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. e62597, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23667497> >.

MARTIN-SCHILD, S. et al. Zero on the NIHSS does not equal the absence of stroke. **Ann Emerg Med**, v. 57, n. 1, p. 42-5, Jan 2011. ISSN 1097-6760 (Electronic) 0196-0644 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20828876> >.

MILLER, J. et al. Management of hypertension in stroke. **Ann Emerg Med**, v. 64, n. 3, p. 248-55, Sep 2014. ISSN 1097-6760 (Electronic) 0196-0644 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24731431> >.

MONTALVILLO, E. et al. Innate lymphoid cells and natural killer T cells in the gastrointestinal tract immune system. **Rev Esp Enferm Dig**, v. 106, n. 5, p. 334-345, May 2014. ISSN 1130-0108 (Electronic) 1130-0108 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25287236> >.

NETO, H. S. et al. Hemodynamic stroke caused by strangulation. **Int J Clin Exp Med**, v. 7, n. 9, p. 2932-5, 2014. ISSN 1940-5901 (Electronic) 1940-5901 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25356163> >.

NI, Y. et al. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density. **J Bone Miner Metab**, v. 32, n. 2, p. 167-73, Mar 2014. ISSN 1435-5604 (Electronic) 0914-8779 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23760743> >.

ORTALDO, J. R.; WILTROUT, R. H.; REYNOLDS, C. W. Natural killer activity: early days, advances, and seminal observations. **Crit Rev Oncog**, v. 19, n. 1-2, p. 1-13, 2014. ISSN 0893-9675 (Print) 0893-9675 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24941370> >.

POTACZEK, D. P. et al. Association between inflammatory markers and the interleukin-6 -174 G/C polymorphism is abolished in peripheral arterial occlusive disease. **Int Angiol**, v. 26, n. 4, p. 318-23, Dec 2007. ISSN 0392-9590 (Print) 0392-9590 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18091699> >.

PUCHNER, A.; BLUML, S. IL-6 blockade in chronic inflammatory diseases. **Wien Med Wochenschr**, Oct 22 2014. ISSN 1563-258X (Electronic) 0043-5341 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25335457> >.

RANTAKOMI, S. H. et al. The frequency of alcohol consumption is associated with the stroke mortality. **Acta Neurol Scand**, v. 130, n. 2, p. 118-24, Aug 2014. ISSN 1600-0404 (Electronic) 0001-6314 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24606050> >.

RIVERA-CHAVEZ, F. A. et al. Interleukin-6 promoter haplotypes and interleukin-6 cytokine responses. **Shock**, v. 20, n. 3, p. 218-23, Sep 2003. ISSN 1073-2322 (Print) 1073-2322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12923492> >.

SCHULERT, G. S.; GROM, A. A. Macrophage activation syndrome and cytokine-directed therapies. **Best Pract Res Clin Rheumatol**, v. 28, n. 2, p. 277-92, Apr 2014. ISSN 1532-1770 (Electronic) 1521-6942 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24974063> >.

SEN, A. et al. Impact of interleukin-6 promoter polymorphism and serum interleukin-6 level on the acute inflammation and neovascularization stages of patients with Eales' disease. **Mol Vis**, v. 17, p. 2552-63, 2011. ISSN 1090-0535 (Electronic) 1090-0535 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22025890> >.

STUNZ, L. L.; BISHOP, G. A. Latent membrane protein 1 and the B lymphocyte-a complex relationship. **Crit Rev Immunol**, v. 34, n. 3, p. 177-98, 2014. ISSN 1040-8401 (Print) 1040-8401 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24941072> >.

SULTAN, S. et al. Predictors of Cholesterol and Lipoprotein(a) Testing in Children with Arterial Ischemic Stroke. **J Stroke Cerebrovasc Dis**, v. 23, n. 9, p. 2405-13, Oct 2014. ISSN 1532-8511 (Electronic) 1052-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25174567> >.

SUN, G. Q. et al. IL-6 gene promoter polymorphisms and risk of coronary artery disease in a Chinese population. **Genet Mol Res**, v. 13, n. 3, p. 7718-24, 2014. ISSN 1676-5680 (Electronic) 1676-5680 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25299085> >.

SUNDBERG, T. B. et al. Small-molecule control of cytokine function: new opportunities for treating immune disorders. **Curr Opin Chem Biol**, v. 23C, p. 23-30, Sep 12 2014. ISSN 1879-0402 (Electronic) 1367-5931 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25222143> >.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 6, n. 10, 2014. ISSN 1943-0264 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25190079> >.

TAO, Q.; WANG, H.; ZHAI, Z. Targeting regulatory T cells in cytokine-induced killer cell cultures (Review). **Biomed Rep**, v. 2, n. 3, p. 317-320, May 2014. ISSN 2049-9434 (Print) 2049-9434 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24748966> >.

TILLMAR, A. O.; MOSTAD, P. Choosing supplementary markers in forensic casework. **Forensic Sci Int Genet**, v. 13, p. 128-33, Nov 2014. ISSN 1878-0326 (Electronic) 1872-4973 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25113577> >.

TUCKER EDMONDS, B. et al. Comparing Neonatal Morbidity and Mortality Estimates across Specialty in Periviable Counseling. **J Matern Fetal Neonatal Med**, p. 1-19, Oct 29 2014. ISSN 1476-4954 (Electronic) 1476-4954 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25354284> >.

TUTTOLOMONDO, A. et al. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of pro-inflammatory/anti-inflammatory and thrombotic/fibrinolytic genes in patients with acute ischemic stroke in relation to TOAST subtype. **Cytokine**, v. 58, n. 3, p. 398-405, Jun 2012. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22425140> >.

VAGAL, A. S. et al. Time to Angiographic Reperfusion in Acute Ischemic Stroke: Decision Analysis. **Stroke**, Oct 28 2014. ISSN 1524-4628 (Electronic) 0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25352484> >.

WANG, W. et al. Prognostic value of ICH score and ICH-GS score in Chinese intracerebral hemorrhage patients: analysis from the China National Stroke Registry (CNSR). **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e77421, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24146993> >.

WARD, L. Blood glucose and stroke. **Nurs Stand**, v. 28, n. 52, p. 61, Sep 2 2014. ISSN 0029-6570 (Print) 0029-6570 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25159978> >.

WENG, P. H. et al. Polymorphisms of an Innate Immune Gene, Toll-Like Receptor 4, and Aggressive Prostate Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e110569, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25360682> >.

WIWANITKIT, V. Aneurysm, ischemic stroke and cysticercosis. **Clin Neurol Neurosurg**, v. 119, p. 135-6, Apr 2014. ISSN 1872-6968 (Electronic) 0303-8467 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24555987> >.

XIANG, J. et al. Increasing flow diversion for cerebral aneurysm treatment using a single flow diverter. **Neurosurgery**, v. 75, n. 3, p. 286-94; discussion 294, Sep 2014. ISSN 1524-4040 (Electronic) 0148-396X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24867201> >.

YIN, Y. W. et al. Influence of interleukin-6 gene -174G>C polymorphism on development of atherosclerosis: a meta-analysis of 50 studies involving 33,514 subjects. **Gene**, v. 529, n. 1, p. 94-103, Oct 15 2013. ISSN 1879-0038 (Electronic) 0378-1119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23954871> >.

YOO, D. S. et al. Various blood glucose parameters that indicate hyperglycemia after intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke could predict worse outcome.

PLoS One, v. 9, n. 4, p. e94364, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24747428> >.

ANEXOS

ANEXO A - Aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa/SES-DF.



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/SES-DF

PARECER Nº 0095/2010

PROTOCOLO Nº DO PROJETO: 380/2010 – POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E AO ANEURISMA INTRACEREBRAL.

Instituição Pesquisada: Secretaria de Saúde do Distrito Federal/SES-DF.

Área Temática Especial: Grupo III (não pertencente à área temática especial), Ciências da Saúde.

Validade do Parecer: 15/12/2012

Tendo como base a Resolução 196/96 CNS/MS, que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisa envolvendo seres humanos, assim como as suas resoluções complementares, o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, após apreciação ética, manifesta-se pela **APROVAÇÃO DO PROJETO**.

Esclarecemos que o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, inciso IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto. **Ressaltamos a necessidade de encaminhar o relatório parcial e final, além de notificações de eventos adversos quando pertinentes.**

Brasília, 16 de dezembro de 2010.

Atenciosamente,

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/SES-DF
Coordenadora

AL/CEP/SES-DF

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone: 325-4955 - Fone/Fax: 326-0119 - e-mail: cepesedf@saude.df.gov.br
SMHN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP: 70.710-907

BRASÍLIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE

ANEXO B – Ficha de identificação dos participantes da pesquisa.

Ficha de identificação dos participantes da pesquisa: Polimorfismo genético ctla4 - 318 (c/t) associado ao acidente vascular encefálico hemorrágico e ao aneurisma intracerebral.

Nome do participante: _____

Nome do representante legal (se houver): _____

Idade: _____

Sexo: Masc. Fem.

Cor: _____

Estado Civil: _____

Data do acidente vascular encefálico hemorrágico e/ou do aneurisma intracerebral: _____

Hipertensão arterial: Sim Não

Pressão Arterial: _____

Diabetes: Sim Não

Glicemia: _____

Tabagismo: Sim Não Se sim, quantos maços por dia: _____

Etilismo: Sim Não Se sim, quanto por dia: _____

Uréia: _____

Creatinina: _____

Plaquetas: _____

Escala de Glasgow: _____

Escala de Rankin: _____

Escala NIHSS: _____

Índice de Barthel: _____

ICH: _____

Tomografia: _____

Angiografia: _____

Observações: _____

ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de todos participantes da pesquisa.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE - Indivíduos “saudáveis”

Você está sendo convidado a participar do estudo “Polimorfismos genéticos associados ao acidente vascular encefálico e ao aneurisma intracerebral”. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo:

O objetivo do presente estudo é o de verificar a frequência de determinadas variantes do DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) em uma população de indivíduos que não apresentam aneurisma cerebral diagnosticado ou acidente vascular encefálico.

Procedimentos do estudo:

Sua participação consiste em responder uma ficha de identificação e autorizar uma única vez, a coleta de aproximadamente 10 ml (uma seringa) de sangue, através de uma punção de veia periférica no antebraço.

O procedimento é o mesmo utilizado para realização de diversos outros tipos de exame de sangue. Serão utilizados equipamentos novos, estéreis e descartáveis.

Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.

Riscos e benefícios:

Este estudo possui desconfortos inerentes à coleta de sangue, como dor no local e formação de um hematoma (mancha roxa).

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. Caso haja algum problema você receberá a atenção necessária e o ressarcimento de alguma eventual despesa.

Sua participação poderá ajudar no maior conhecimento sobre qual a frequência na população saudável de determinadas características genéticas que podem causar doenças e deste modo na melhor compreensão do fator genético de determinadas doenças.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo:

Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar. Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

Conforme previsto pelas leis brasileiras você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade:

Seus dados serão identificados com um número e somente os pesquisadores saberão que número pertence a cada indivíduo.

Os resultados de seus exames serão acessíveis somente aos pesquisadores envolvidos. Os resultados dos seus exames poderão ser entregues pela pesquisadora responsável mediante a sua solicitação, a qualquer momento, desde que as amostras já tenham sido processadas e analisadas. Esta solicitação poderá ser feita agora durante a assinatura deste TCLE, por email ou telefone, presentes neste TCLE, e a pesquisadora agendará uma reunião para a entrega do resultado.

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 deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Eu, _____ RG _____, após receber uma explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Assinatura do participante

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Paciente

Polimorfismos genéticos associados ao Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico e ao Aneurisma Intracerebral

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ele contém explicações sobre o estudo que você está sendo convidado a participar. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo:

Você está sendo convidado a participar de um estudo pelo fato de ter apresentado um aneurisma ou um acidente vascular encefálico (“derrame”). Você poderá decidir participar ou não. A decisão é sua.

Existe uma possibilidade de associação de fatores genéticos com o aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”), assim, este estudo tem o objetivo geral de conhecer um pouco melhor como “funciona” estas doenças, do ponto de vista genético.

O objetivo específico deste estudo é o de conhecer se determinadas seqüências do DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) pode aumentar o risco de pessoas apresentarem aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”).

Procedimentos do estudo:

Sua participação consiste em responder um questionário e autorizar que seu os pesquisadores possam ver seu prontuário, para que tenham maior conhecimento de seus exames, tratamento e da história da sua doença.

Após isso será coletado de você, uma única vez, aproximadamente 10 ml (uma seringa pequena) de sangue, através de uma punção da veia do seu antebraço. O procedimento é o mesmo utilizado para realização de diversos outros tipos de exame de sangue. Serão utilizados equipamentos novos, estéreis e descartáveis.

Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.

Riscos:

Este estudo possui riscos mínimos que são inerentes do procedimento de coleta de sangue. Medidas preventivas durante a coleta serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo.

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.

Benefícios:

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 o aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”), principalmente em relação às causas genéticas da doença.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo:

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.

Confidencialidade:

Os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

Seus dados serão identificados com um número e somente os pesquisadores saberão que número pertence a cada indivíduo.

Os resultados de seus exames, bem como as informações de seu prontuário, serão acessíveis somente aos pesquisadores envolvidos.

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado no Centro de Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma- AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari.

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 deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor entre em contato com a enfermeira Hélia Carla de Souza, no setor de Neurocirurgia, do Hospital de Base de Brasília, no horário matutino. Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. Qualquer dúvida com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3325-4955. Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Eu, _____ RG _____, após receber uma explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Brasília, _____ de _____ de _____

Participante

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Representante Legal

Polimorfismos genéticos associados ao Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico e ao Aneurisma Intracerebral

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ele contém explicações sobre o estudo que o paciente sob sua responsabilidade está sendo convidado a participar. Antes de decidir se deseja aceitar que o paciente sob sua responsabilidade (de livre e espontânea vontade) participe, você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso

decida aprovar a participação, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo:

O paciente sob a sua responsabilidade está sendo convidado a participar de um estudo pelo fato de ter apresentado um aneurisma ou um acidente vascular encefálico (“derrame”). Você poderá decidir que ele participe ou não. A decisão é sua.

Existe uma possibilidade de associação de fatores genéticos com o aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”), assim, este estudo tem o objetivo geral de conhecer um pouco melhor como “funciona” estas doenças, do ponto de vista genético.

O objetivo específico deste estudo é o de conhecer se determinadas seqüências do DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) pode aumentar o risco de pessoas apresentarem aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”).

Procedimentos do estudo :

A participação do paciente sob sua responsabilidade consiste em autorizar que seu os pesquisadores possam ver o prontuário do paciente, para que tenham maior conhecimento dos exames, tratamento e da história da sua doença do paciente que está sob sua responsabilidade.

Após isso será coletado do paciente sob sua responsabilidade, uma única vez, aproximadamente 10 ml (uma seringa pequena) de sangue, através de uma punção da veia do seu antebraço. O procedimento é o mesmo utilizado para realização de diversos outros tipos de exame de sangue. Serão utilizados equipamentos novos, estéreis e descartáveis.

Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.

Riscos:

Este estudo possui riscos mínimos que são inerentes do procedimento de coleta de sangue. Medidas preventivas durante a coleta serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo.

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.

Benefícios:

A participação do paciente sob sua responsabilidade 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.

A participação do paciente sob sua responsabilidade poderá ainda ajudar no maior conhecimento sobre o aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”), principalmente em relação às causas genéticas da doença.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo :

A participação do paciente sob sua responsabilidade é voluntária e não alterará o seguimento e tratamento da doença que você já está fazendo.

Você poderá retirar a autorização de participação do paciente sob sua responsabilidade desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

Caso você decida não concordar com a participação, isto não afetará o seguimento e tratamento normal nem o relacionamento do paciente sob sua responsabilidade com a equipe médica.

Conforme previsto pelas leis brasileiras você não haverá nenhum tipo de compensação financeira pela participação neste estudo.

Confidencialidade:

Os registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

Os dados do paciente sob sua responsabilidade serão identificados com um número e somente os pesquisadores saberão que número pertence a cada indivíduo.

Os resultados dos exames, bem como as informações do prontuário, serão acessíveis somente aos pesquisadores envolvidos.

O sangue do paciente sob sua responsabilidade, coletado no presente estudo, ficará guardado no Centro de Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma-AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari. 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 deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor entre em contato com a enfermeira Hélia Carla de Souza, no setor de Neurocirurgia, do Hospital de Base de Brasília, no horário matutino. Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. Qualquer dúvida com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3325-4955. Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Eu, _____ RG

_____, após receber uma explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos concordo voluntariamente em permitir a

participação do paciente sob minha responsabilidade, o
Sr(a) _____ Brasília,
_____ de _____ de _____

Responsável pelo Participante da pesquisa

ANEXO D – Termo de guarda de material biológico de todos os participantes da pesquisa.

Termo de Guarda de Material Biológico – Indivíduos “saudáveis”

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 Centro de Bioprospecção e Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma-AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari 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 _____

Termo de Guarda de Material Biológico – Paciente

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 Centro de Bioprospecção e Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma-AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari. - O sangue será utilizado somente em pesquisas que tenham como objetivos verificar se determinadas sequências no DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) pode aumentar o risco de pessoas apresentarem aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”).

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número. 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 _____

Termo de Guarda de Material Biológico – Representante Legal

Este documento é chamado é chamado Termo de Guarda de Material Biológico. Ele contém explicações sobre a guarda do material biológico (sangue) do paciente sob sua responsabilidade. Você poderá autorizar ou não a guarda do material biológico do paciente sob sua responsabilidade.

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.

A qualquer momento você terá acesso aos dados do paciente sob sua responsabilidade e de seus dados genéticos, assim como terá o direito de retirar o material biológico do banco onde se encontra armazenado.

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

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

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com o nome do paciente sob sua responsabilidade. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número.

O sangue será utilizado somente em pesquisas que tenham como objetivos verificar se determinadas sequências no DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) pode aumentar o risco de pessoas apresentarem aneurisma ou acidente vascular encefálico (“derrame”).

O sangue do paciente sob sua responsabilidade, coletado no presente estudo, ficará guardado no Centro de Bioprospecção e Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma-AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari.

Eu, _____ RG
_____, após receber uma explicação completa dos procedimentos envolvidos na guarda de material biológico, venho através deste termo consentir a guarda do material biológico (sangue) do paciente sob minha responsabilidade.
Paciente sob minha responsabilidade:

Assinatura do participante

Brasília, _____ de _____ de _____