

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

NATHALIA OLIVEIRA RODRIGUES

**ESTUDO DE VARIANTES ALÉLICAS DA  
MMP1 E FATORES DE RISCO  
CEREBROVASCULAR EM IDOSOS DO  
DISTRITO FEDERAL**

BRASÍLIA  
2017

NATHALIA OLIVEIRA RODRIGUES

ESTUDO DE VARIANTES ALÉLICAS DA  
MMP1 E FATORES DE RISCO  
CEREBROVASCULAR EM IDOSOS DO  
DISTRITO FEDERAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade de Brasília – UnB – Faculdade de  
Ceilândia como requisito parcial para obtenção do  
título de bacharel em Farmácia.  
Orientador : Otávio Toledo Nóbrega

BRASÍLIA  
2017

NATHALIA OLIVEIRA RODRIGUES

ESTUDO DE VARIANTES ALÉLICAS DA  
MMP1 E FATORES DE RISCO  
CEREBROVASCULAR EM IDOSOS DO  
DISTRITO FEDERAL

Brasília, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr. Otávio Toledo Nóbrega  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB  
Orientador

---

Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Jamila Reis de Oliveira  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB

---

Prof.Dr. Izabela Marques Dourado Charneau  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB

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

Rodrigues, Nathalia Oliveira  
RR696 ESTUDO DE VARIANTES ALÉLICAS DA  
MMP1 E FATORES DE RISCO  
CEREBROVASCULAR EM IDOSOS DO  
DISTRITO  
FEDERAL / Nathalia Oliveira Rodrigues; orientador  
Otávio Toledo Nóbrega. -- Brasília, 2017.  
55 p.  
Monografia (Graduação - Farmácia) --  
Universidade de Brasília, 2017.

### ***Dedicatória***

*Este trabalho é dedicado a todos que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus, pelo dom da vida.*

*A meu orientador, professor doutor Otávio Toledo Nóbrega, pelas orientações e intervenções necessárias.*

*A minha família, pelo apoio, incentivo, dedicação e por enfrentar junto a mim as dificuldades; em especial, a minha mãe, Joselita, e minha irmã, Amanda, pelas palavras de consolo nos momentos difíceis.*

*A Aldrey e a Adriane, pela ajuda durante a realização da pesquisa de laboratório.*

*A Murilo, pela ajuda e dedicação.*

*Aos meus amigos, pelas palavras amigas e pelo apoio.*

*E, por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente participaram da elaboração deste trabalho.*

### Epígrafe

*“A ciência permanecerá sempre a satisfação do desejo mais alto da nossa natureza, a curiosidade; fornecerá sempre ao homem o único meio que ele possui de melhorar a própria sorte”.(Ernest Renan)*

## RESUMO

Devido a alta incidência de doenças vasculares, torna-se necessário o conhecimento de novos marcadores circulantes ou estruturais para predição de risco para doenças crônicas. Alguns estudos sugerem que polimorfismos no gene da MMP1 estão associados com níveis de expressão da enzima *in situ* (ex.: em placas ateroscleróticas). Assim, o estudo deste Realizamos análises transversais de avaliações clínicas e laboratoriais, incluindo medição da da espessura íntima-média das carótidas e genitipagem para o SNP rs495366 em 366 pessoas com idade igual ou superior a 60 anos. Não houve diferenças significativas entre grupos para variáveis bioquímicas e metabólicas e clínicas, a não ser por uma importante diferença em espessura médio-intimal encontrada sobre a artéria carótida esquerda assim como uma tendência à significância no tocante à espessura da carótida direita. O grupo com menor nível de expressão de MMP 1 (grupo A) apresentou uma espessura carotídea maior comparada aos indivíduos GG. Este evento pode ser explicado pela degradação das fibras de colágeno exercida pela MMP1. Este fato permite o espessamento carotídeo ao causar um remodelamento vascular positivo. O crescimento da placa arteroclerótica reduz de forma progressiva a função anticoagulante das células endoteliais, tornando o vaso mais suscetível a ruptura. Neste estudo verificou-se que sujeitos portadores de alelo envolvido com menor expressão de MMP-1 apresentam proporcionalmente maior espessura da camada médio-intimal da carótida esquerda, estando este achado associado a um maior risco para eventos cerebrovasculares.

**Palavras chaves:** Metaloproteinase de Matriz do tipo 1, Risco cerebrovascular, Espessura íntima-média da artéria carótida, Vulnerabilidade da placa aterosclerótica, Matriz extracelular vascular.



## ABSTRACT

Due to high incidence of vascular diseases, it is necessary to the knowledge of new circulating markers or risk prediction for chronic diseases. Some studies suggest that polymorphisms of MMP1 gene are associated with levels of expression of the enzyme in situ (e.g. in atherosclerotic plaques). Thus, the study of this polymorphism can facilitate the understanding of the pathophysiology of coronary disease. We perform analyses of cross-sectional clinical and laboratory evaluations, including measurement of the thickness of the carotid and middle-intimate genitipagem to the SNP in rs495366 366 people aged 60 years or more. There were no significant differences between groups for biochemical and metabolic and clinical variables, except for one important difference in intima-media thickness found on the left carotid artery as well as a trend toward significance regarding the thickness of the right carotid. The group as a lower level of expression of MMP 1 (Group A) presented a carotid thickness greater compared to individuals GG. This event can be explained by the breakdown of collagen fibers exerted by MMP1. This fact allows the thickening carótideo to cause a positive vascular remodeling. The growth of the arteroclerótica plate reduces progressively the anticoagulant function of endothelial cells, making the vase more susceptible to rupture. In this study it was found that subjects involved with the lowest allele carriers expression of MMP-1 feature proporcionamente biggest thickness of carotid intima-media layer esquerda, and this finding is associated with a higher risk for cerebrovascular events

**.Key words:** matrix Metalloproteinase 1, cerebrovascular Risk type, thickness close-carotid artery average, vulnerability of atherosclerotic plaque, vascular extracellular matrix.

## SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	14
2-JUSTIFICATIVA.....	16
3-OBJETIVOS.....	17
3.1-Objetivos Específicos .....	17
4-METODOLOGIA .....	18
4.1-Amostra .....	18
4.2-Avaliações clínicas e bioquímicas.....	18
4.3-Medição da espessura íntima-média .....	19
4.4-Genotipagem de MMP-1 .....	19
4.5-Avaliações inflamatórias .....	20
4.6-Análise estatística.....	21
4-RESULTADOS .....	22
Tabela 1. Variáveis Antropométricas, clínicas e metabólicas da amostra. ..	22
5-DISCUSSÃO.....	25
6-CONCLUSÃO .....	29
7-REFERÊNCIAS .....	30
8-ANEXOS.....	35
8.1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	35
8.2-Ficha Clínica/ Anamnese .....	36
8.3 Termo de Aprovação do Comitê de Ética.....	37
8.4-Artigo .....	38

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AVE-Acidente Vascular Encefálico

CA – Circunferência Abdominal

DATASUS- banco de dados do Sistema Único de Saúde

DF- Distrito Federal

DM2- Diabetes Mellitus do Tipo 2

EMI- Espessura Média Intimal

HAS- Hipertensão Arterial Sistêmica

Hb1c- Hemoglobina Glicada

HDL- Lipoproteína de Alta Densidade

IL- Interleucina

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL-Lipoproteína de Baixa Densidade

MEC- Matriz Extracelular

MMP- Metaloproteinase de Matriz

OMS- Organização Mundial da Saúde

PA- Pressão Arterial

Pad – Pressão Arterial Diastólica

Pas- Pressão Arterial Sistólica

PC reativa – Proteína C Reativa

RT-PCR- Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

SNP-Polimorfismo de nucleotídeo único

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TSH- Hormônio Estimulante da Tireoide

UCB- Universidade Católica de Brasília

UnB- Universidade de Brasília

VLDL- Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

## **LISTA DE TABELAS E FIGURAS**

Tabela 1. Variáveis Antropométricas, clínicas e metabólicas da amostra.

Figura 1 – Localização do gene MMP1;

Figura 2: Condições de Ciclagem.

## 1-INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que 60% das mortes no mundo são decorrentes de doenças crônicas, principalmente doenças cardiovasculares, e estima que em 2020 esse índice será de 80% nos países em desenvolvimento (AVEZUM et al,2012). No Brasil, cerca de um terço das mortes de indivíduos acima dos 60 anos de idade tem causas por distúrbios vasculares, proporção semelhante à que ocorre no Distrito Federal (BRASIL, 2011). Distúrbios vasculares apresentam fatores de risco clínicos que contribuem para a progressão das doenças e mortalidade dos pacientes acometidos, a exemplo de obesidade, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemias, além de contribuintes genéticos. Neste contexto, podemos destacar a arteriosclerose como achado subjacente ao desencadear a maior proporção de casos de doenças cardiovasculares (FONSECA, 2012).

A aterosclerose resulta de um processo inflamatório crônico dentro da parede arterial iniciado principalmente em resposta a estruturas modificadas endogenamente, particularmente lipoproteínas oxidadas. É amplamente reconhecido que a estimulação por mediadores circulantes das respostas imunes inatas e adaptativas leva a uma maior alteração da parede vascular, promovendo a progressão da doença e complicações (MALLAT,2009) com evidências de que o desequilíbrio entre fatores pró- e anti-inflamatórios desempenha um papel crítico na disfunção endotelial vascular precoce (NEWBY,2005).

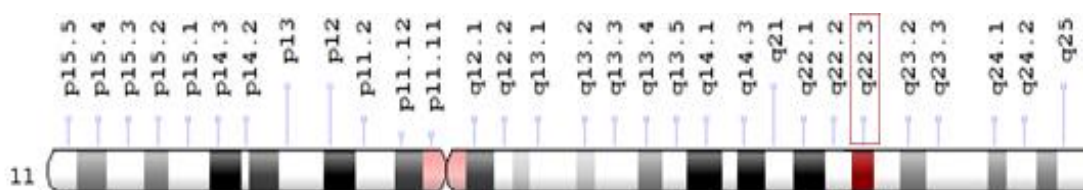
A aterosclerose é processo progressivo e irreversível, resultante de uma série de contribuintes celulares e moleculares específicos (GOTTLIEB,2005), e que afeta artérias grandes e médias, de naturezas elástica ou muscular. A principal preocupação consiste na possibilidade de causar trombose ou estenose grave nas artérias, levando a eventos adversos de risco à vida como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e lesões isquêmicas de rins e intestinos, além de outras manifestações. Evitar a morte e a morbidade por causas circulatórias justifica grande interesse na identificação de pacientes assintomáticos em risco. Neste sentido, o espessamento da camada médio-intimal da artéria carótida comum consiste em um biomarcador subclínico

conhecido, de fácil aferição e capacidade preditiva razoável para eventos vasculares importantes (Sua avaliação por ultrassonografia tem baixo custo e caráter não invasivo (ANDRADE,2012).

O desenvolvimento de uma placa aterosclerótica vulnerável envolve intensa inflamação, com presença de linfócitos, macrófagos e mastócitos. Neste meio, costuma haver secreção de metaloproteinases de matriz (MMPs) pelos macrófagos que, de forma progressiva, degradam os componentes colagenosos da cápsula fibrosa. As MMPs são endopeptidases que possuem zinco e/ou cálcio em sítio ativo, e degradam proteínas de matriz extracelular como fibras de colágenon comprometendo a integridade da membrana basal do endotélio e a estabilidade da placa com risco de ruptura dos ateromas avançados (DA SILVA,2011; FONSECA, 2012).

O estudo da expressão das metaloproteinases de matriz torna-se importante para o entendimento dos processos biológicos como a diferenciação e função celular relacionados aos processos patológicos (SANTOS,2011), como da doença arterial coronariana. (HORNE,2008). Há relato de que a expressão do gene MMP1 pode ser influenciada por polimorfismo de inserção de base única sobre a região promotora do gene, localizado à 11q22.3(Figura 1), e que resulta em maior expressão de MMP1 pela variante alélica que contém inserção. (SANTOS,2011; HUANG et al, 2013).

Figura 1 – Localização do gene MMP1,;



Fonte: Adaptado de: [Genome Decoration Page/NCBI](https://ghr.nlm.nih.gov/genome-decoration)

<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MMP1#resources>

## 2-JUSTIFICATIVA

Devido a alta incidência de doenças vasculares, torna-se necessário o conhecimento de novos marcadores circulantes ou estruturais para predição de risco para doenças crônicas. Alguns estudos sugerem que polimorfismos no gene da MMP1 estão associados com níveis de expressão da enzima, tando *in situ* (ex.: em placas ateroscleróticas) (NIKKARI et al, 1995). Cheng e colaboradores, ao usar uma estratégia de varredura genômica de alto desempenho encontrou evidência de uma associação entre o SNP rs495366 do gene *MMP1* e os níveis de expressão do gene (CHENG et al,2009)Assim, o estudo deste polimorfismo pode facilitar a compreensão da fisiopatologia da doença coronária.



### **3-OBJETIVOS**

O objetivo geral deste estudo consistiu em verificar a associação entre genótipos do polimorfismo rs495366 do gene para MMP-1 com fatores de risco cerebrovascular encontrados em amostra da população idosa do Distrito Federal.

#### 3.1-Objetivos Específicos

- Padronizar e executar as estratégias de biologia molecular pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) para estudo da frequência do polimorfismo MMP1 em indivíduos idosos do DF, testando a associação dos genótipos obtidos com as variáveis clínicas e bioquímicas levantadas.
- Realizar levantamento bibliográfico sobre o polimorfismo rs495366 do gene MMP-1 e os fatores de risco cardiovasculares.
- Obtenção de dados clínicos da população idosa do DF por meio de uma rotina de avaliações médicas, e de exames laboratoriais que permitindo acompanhamento para obtenção de um levantamento da prevalência e dos fatores de risco associados aos distúrbios de saúde, sobretudo aos que constituem risco cerebrovascular.

## 4-METODOLOGIA

### 4.1-Amostra

Uma amostra de pacientes não institucionalizados com idade igual ou superior a 60 anos, sem sintomas clínicos de aterosclerose grave, recrutados entre 2011 e 2013 em dois ambulatórios de geriatria geral [Serviço de Geriatria da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Centro de Geriatria da Universidade de Brasília (UnB)] localizados na Região Metropolitana do Distrito Federal, com o objetivo de avaliar risco para eventos vasculares por meio de uma avaliação transversal. Pacientes recrutados na UnB foram direcionados para o HUCB para fins de possibilitar uma avaliação de base padronizada, com protocolo clínico conduzido pela mesma equipe.

Crítérios de inclusão consistiram essencialmente em o paciente buscar espontaneamente cuidados primários ou secundários para eventos circulatórios. Os critérios de exclusão para integrar essas análises consistiram em apresentar (i) história clínica de doença autoimune ou neoplasias de qualquer tipo, atual ou pregressa, (ii) relato de condição pulmonar compatível com obstrução grave sintomática, (iii) doença renal crônica grave expressa por depuração de creatinina  $< 25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , e/ou (iv) história clínica de infecções recorrentes ou inflamação crônica.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UnB, sob o protocolo 061/2011. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

### 4.2-Avaliações clínicas e bioquímicas

O exame clínico consistiu em uma inspeção geral do paciente, com aferição da pressão arterial (PA) de repouso, ausculta cardíaca e pulmonar; palpação superficial e profunda do abdome, inspeção dos membros inferiores e a palpação digital dos mesmos, segundo normas semiológicas de rotina. Foi realizado também um levantamento sobre o perfil socioeconômico e dos medicamentos utilizados, com registro dos princípios ativos consumidos e sua classificação. Eventos circulatórios prévios como infarto do miocárdio ou cerebrovascular bem como aspectos de estilo de vida como sedentarismo e tabagismo foram registrados.

O diagnóstico de diabetes tipo 2 conciliou auto-relato da condição com dosagem hemoglobina glicada em jejum (Hb1Ac)  $\geq 6,5\%$ , com ou seu consumo de hipoglicemiantes ou insulina (13). Os praticantes de exercícios físicos foram aqueles que exibiram 30 minutos ou mais de exercícios por ao menos quatro dias da semana, enquanto o hábito de fumar foi definido como consumo  $> 100$  cigarros ao longo da vida. Para análise metabólica, foram obtidas as seguintes medidas de acordo com a bioquímica clínica de rotina e expressas em unidades padrão: glicemia, hemoglobina glicada (HbA1c), colesterol total e frações, triglicérides, proteína C reativa de alta sensibilidade e TSH. As análises antropométricas avaliaram o índice de massa corporal (IMC, em  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) e a circunferência da cintura (cm) de cada sujeito.

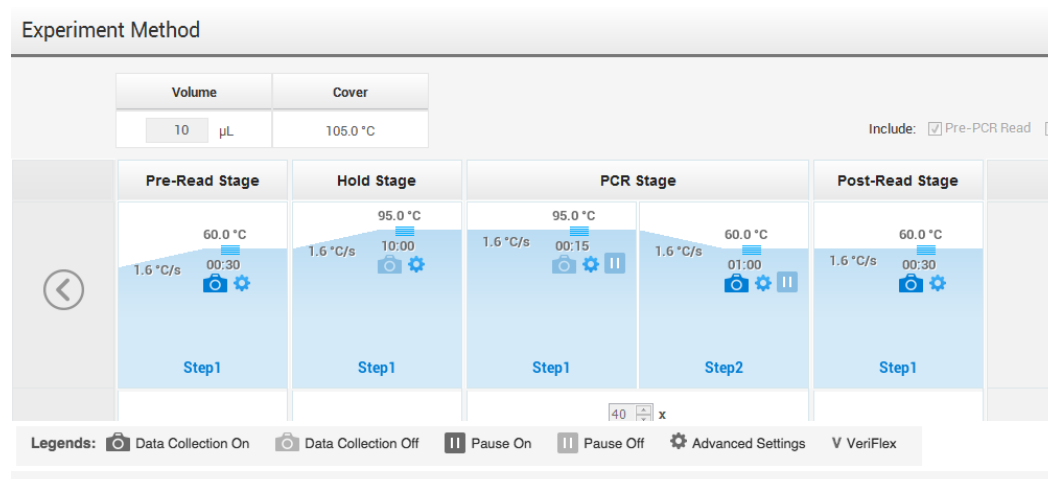
#### 4.3-Medição da espessura íntima-média

A espessura íntima-média da artéria carótida (EMlc) foi estudada de forma não invasiva em todos os participantes por meio de ultra-som de alta resolução, utilizando equipamento Philips (modelo IE 33) com um transdutor linear de 3-9 MHz. As medidas de cEMI foram realizadas bilateralmente na parede distal do bulbo da artéria carótida comum e na origem da artéria carótida interna, por meio de programa automatizado de detecção de borda que é capaz de mostrar o valor máximo de 150 medidas de qualquer segmento de 10 mm. O EMI máximo foi medido manualmente como a média de 3 medições independentes. Todos os procedimentos clínicos e avaliações de imagem foram realizados na UCB.

#### 4.4-Genotipagem de MMP-1

DNA genômico total foi obtido com kit comercial para extração (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Brasil). A genotipagem foi realizada utilizando-se da técnica de qPCR (PCR em tempo real) em equipamento QuantStudio 3 Real-Time PCR System, com reagente TaqMan® Universal Master Mix e ensaio específico para o SNP rs495366 da empresa ThermoFisher (Massachusetts, USA) com os iniciadores TTGACCTAAATTTCTGCAAACCTATA[G ou A]TCTTATGGTTATGACTCTTTTTGT para os alelos G [FAM] e A [VIC], respectivamente. Tempo de ciclagem e número de ciclos padrão ocorreram como sugeridos pelo Quantstudio Design & Analysis Software, software do equipamento( figura 2).

Figura 2: Condições de Ciclagem.



Fonte: Quantstudio Desing & Analysis Software.

#### 4.5-Avaliações inflamatórias

Por ocasião das avaliações bioquímicas, o sangue total foi retirado e o soro obtido foi mantido congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$  até ser descongelado para a avaliação dos mediadores imunológicos. As concentrações de citocinas foram avaliadas por um método de citometria de fluxo multiplexado utilizando dois conjuntos de ensaios imunológicos baseados em contagens conhecidos como o kit Th1 / Th2 / TH17 humano e o kit Inflamatório Humano fabricado por BD Biosciences @ (San Diego, CA, EUA), utilizado de acordo com Os protocolos do fabricante e que, todos juntos, produziram medições para dez mediadores circulantes diferentes, como se segue: IL10, IL12e TNF.

Resumidamente, as alíquotas de citocinas liofilizadas e as amostras de soro foram processadas conjuntamente, e os resultados foram obtidos utilizando o citômetro de fluxo BD FACSCalibur, canal FL4. Foram adquiridos trezentos eventos para cada esfera de citocina utilizada. Os dados foram analisados utilizando o software FCAP, versão 3.0 (BD Biosciences®, San Diego, CA, EUA). As curvas padrão para cada citocina foram geradas usando a mistura padrão de mediadores fornecidos. A concentração em cada soro foi determinada por interpolação a partir da curva padrão correspondente.

#### 4.6-Análise estatística

Com o objetivo de avaliar a ocorrência de diferenças entre medidas clínicas, bioquímicas e antropométricas na amostra conforme genótipos de MMP-1, nossas análises estatísticas compararam medidas de tendência central pelo teste de Mann-Whitney (variáveis contínuas) ou frequências pelo teste do qui-quadrado. A distribuição normal de todas as variáveis foi avaliada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para estas análises, foi adotado  $P \leq 0,05$  como limiar de significância. Todas as análises foram realizadas com o Pacote Estatístico para as Ciências Sociais (SPSS) para Windows (versão 17.0).

#### 4-RESULTADOS

Participaram do estudo 366 pessoas com idade igual ou superior a 60 anos, sem sintomas clínicos de aterosclerose grave, atendidos no ambulatórios de geriatria geral do Serviço de Geriatria da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Centro de Geriatria da Universidade de Brasília (UnB).

As características Antropométricas, metabólicas e bioquímicas foram estatisticamente analisadas em dois grupos: grupo A que possui o alelo A (sendo incluídos os indivíduos heterozigotos e homozigotos para o alelo A) e o grupo GG (composto pelos heterozigotos para G) conforme apresentado na tabela 1 .

Tabela 1. Variáveis Antropométricas, clínicas e metabólicas da amostra.

Variáveis	rs495366 genótipos		p
	GG (n = 174)	A_ (n = 192)	
Idade, anos	79.5 ± 9.3	79.2 ± 8.3	0.780
Sexo, %	32.2	28.1	0.398
IMC, kg.m <sup>-2</sup>	26.9 ± 4.9	26.9 ± 5.1	0.906
CA, cm	96.3 ± 12.4	94.7 ± 11.4	0.202
Pas, mm Hg	138.8 ± 20.4	142.0 ± 21.2	0.151
Pad, mm Hg	78.1 ± 11.0	77.2 ± 11.5	0.418
HAS, %	76.4	76.0	0.929
Nível de Glicose, mg.dl <sup>-1</sup>	101.8 ± 22.6	105.4 ± 43.0	0.325
HbA1c, %	6,0 ± 0,9	6,1 ± 1,3	0,333
DM2, %	25,3	21,4	0,374
Colesterol total I, mg.dl <sup>-1</sup>	194.4 ± 40.0	203.2 ± 84.2	0.211
Triglicerídeos, mg.dl <sup>-1</sup>	131.5 ± 58.8	135.3 ± 62.6	0.551
HDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	51.7 ± 12.9	51.5 ± 13.2	0.898
LDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	113.2 ± 34.1	115.9 ± 36.2	0.472
VLDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	29.3 ± 13.4	30.0 ± 13.9	0.612
Depuração de creatinina (ml.min <sup>-1</sup> )	60.3 ± 26.4	55.6 ± 24.1	0.176

PC reativa, mg.dl <sup>-1</sup>	1.61 [2.25]	1.70 [3.10]	0.636
TSH, mIU.l <sup>-1</sup>	2.16 [2.05]	2.15 [2.53]	0.976
TNF	0.00 [0.60]	0.00 [0.34]	0.684
IL12	0.00 [8.92]	0.00 [8.93]	0.551
IL10	0.84 [2.84]	1.24 [2.94]	0.599
Sedentários, %	59.2	63.0	0.453
Fumantes, %	19.5	17.2	0.561
cEMIdireita, mm	1.28 ± 0.60	1.40 ± 0.66	0.087
cEMI direita,mm	1.27 ± 0.60	1.44 ± 0.64	0.041

Os dados são expressos como média ± desvio padrão para parâmetros contínuos distribuídos normalmente, como frequências relativas dentro do genótipo para características categóricas como mediana e intervalo interquartil entre parênteses para variáveis contínuas não normalmente distribuídas. IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; HbA1c = hemoglobina glicada ; DM2 = diabetes mellitus tipo 2; VLDL-c = colesterol de lipoproteína de densidade muito baixa; LDL-c = colesterol de lipoproteína de baixa densidade; HDL-c = colesterol lipoproteico de alta densidade, PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; HAS = hipertensão arterial sistêmica; PCreativa = proteína C-reativa; TSH = hormônio estimulante da tireoide; EMT = espessura da camada íntima da carótida .

#### cEMIdireita

As estatísticas inferenciais sobre as variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas analisaram indivíduos conforme portadores do genótipo A\_ (incluídos heterozigotos e homozigotos para o alelo A) ou do genótipo GG, e são apresentados à Tabela 1. Em termos meramente descritivos, a amostra revelou-se marcada por escores representativos de uma elevada prevalência de distúrbios bioquímicos e metabólicos como sobrepeso, diabetes, dislipidemia e hipertensão arterial, características esperadas por se tratar de indivíduos idosos em contexto de país em desenvolvimento. No entanto, não foram encontradas variações em frequências ou valores médios destes achados conforme genótipos de MMP1.

Do mesmo modo que ocorrido para variáveis bioquímicas e metabólicas, não houve diferenças significativas entre grupos para variáveis clínicas, a não ser por uma importante diferença em espessura médio-intimal encontrada sobre a artéria carótida esquerda (p = 0.041) assim como uma tendência à

significância no tocante à espessura da carótida direita ( $p = 0.087$ ). Em variáveis comportamentais de risco para eventos vasculares, como sedentários ou tabagismo, não houve níveis de diferenças compatíveis com significância estatística ou clínica.



## 5-DISCUSSÃO

Vários fatores genéticos são considerados determinantes para o desenvolvimento de doença aterosclerótica. Cerca de 400 genes podem estar envolvidos na regulação de vários fatores como a função endotelial, da coagulação, da inflamação e do metabolismo de lípidos (DOEVENDANS et al, 2001). Entre estes, destacamos em nossa pesquisa o polimorfismo da MMP-1 (colagenase-1) pelo fato de o desequilíbrio de sua atividade ser apontado pela literatura como um fator que contribui para a instabilidade da placa no ateroma (YEA S.,2003).

No entanto, pensa-se que a expressão aumentada de MMP-1 nos estágios iniciais pode ser uma resposta benéfica, atrasando a evolução para eventos tromboembólicos (YEA S.,2003).

Considerando que já foi demonstrado que uma elevação em espessura carotídea da ordem de 0,10 mm aumenta tanto o risco de eventos vasculares como infarto agudo do miocárdio (hazards ratio = 1,14) quanto de derrame encefálico (hazards ratio = 1,17) (Lorenz et al, 2007), os achados do presente estudo sugerem ser plausível uma contribuição por parte do SNP rs495366 do gene da MMP-1 para determinação da espessura carotídea.

Estudos têm evidenciado que os polimorfismos nas regiões promotoras dos genes da MMP-1 afetam a expressão gênica e têm sido implicados em doenças cardíacas como o infarto agudo do miocárdio (CHENG et al,2009). Nossos resultados apontam para a existência de uma associação entre redução da espessura da camada intima da carótida esquerda entre indivíduos portadores do genótipo GG do SNP rs495366, assim como uma tendência semelhante referente à carótida direita.

Newby (2005) sugere que pode haver dois estágios que determinam a vulnerabilidade de uma placa de ateroma à ruptura. Na primeira fase, que pode durar muitos anos, a lesão acumula um núcleo necrótico sob uma tampa fibrosa, e a MMP-1 derivada de células musculares lisas enfraquece regiões de alto estresse. Na segunda etapa, que é provavelmente mais aguda, a lesão acumula macrófagos que aceleram o processo de degradação da matriz na localização da ruptura. A descrição recente de um estado inflamatório sistêmico em

algumas síndromes coronárias instáveis é consistente com essa hipótese e com o papel atribuído à MMP1 neste processo patológico (NEWBY,2005). Neste contexto, um determinante para o aparecimento de eventos cerebrovasculares consiste na presença de uma placa aterosclerótica instável, decorrente da aderência dos monócitos com liberação de metaloproteinases que promovem dissolução das fibras conjuntivas da capa fibrosa, predispondo a placa ao rompimento (RABADÃO, 2014, FONSECA, 2012).

As metaloproteinases de matriz (MMPs) podem atuar em conjunto para degradar os principais componentes da matriz extracelular vascular. Todas as células presentes na parede do vaso sanguíneo normal e doente aumentam a regulação e ativam as MMPs de uma forma múltipla, em parte, por citocinas solúveis e interações célula-célula. A ativação de proformas de MMP requer outras MMPs ou outras classes de protease. A ativação de MMP 1 contribui para o remodelação da parede vascular e consequente crescimento da camada íntima em resposta a lesões, principalmente por migração de células musculares lisas vasculares. Neste sentido, é plausível que a associação observada decorra de uma capacidade prejudicada de promoção de remodelamento entre portadores do alelo A, implicado com menor expressão tecidual da enzima (NEWBY,2005). Gaubatz et al (2010) sugeriu que uma menor expressão de MMP1 levariam ao um acúmulo de proteínas da matriz extracelular, contribuindo para a formação precoce de lesões vasculares e para mudanças estruturais que promovem ruptura de placas de atheroma. O papel protetor da expressão de MMP 1 pelo alelo G foi sugerido nos estudos de Lemaître et al. (2001) e por Ye (2003), pois estes sugerem que uma maior expressão de MMP-1 durante a aterogênese resulta em lesões menores e menos avançadas com menor teor de colágeno, o que sugere que um aumento da degradação da matriz de colágeno atrasa a progressão da aterogênese, apresentando-se como lesões mais estáveis.

Assumindo que ambos os grupos genotípicos eram quase iguais em tamanhos, a equação reproduzida por Whitley e Ball, 2002, foi usada para calcular a posteriori o poder de nosso estudo para detectar uma alteração na espessura da carótida. Tendo em conta as medidas do

ramo esquerdo, a diferença nos valores médios entre os genótipos foi de 0,17 mm, enquanto o desvio padrão geral da variável foi de 0,62 mm, de modo que a diferença padronizada a detectar foi  $0,17 / 0,62 = 0,274$  ( $\square$  0,3). Com isso, o número de participantes necessários em cada grupo para detectar uma diferença com poder discriminatório de 80% e um corte de 5% para significância estatística foi determinado como 176 indivíduos, o que torna nosso estudo muito próximo para ser intitulado como razoavelmente delineado, se não reduzido por apenas dois Indivíduos entre os homozigotos G.

Deve-se ressaltar que o aparecimento da placa aterosclerótica é multifatorial, em sua maioria decorrentes de hábitos de vida não saudáveis como dieta rica em lipídeos e carboidratos, sedentarismo e uso de cigarros. Estes hábitos promovem o aumento da incidência de distúrbios metabólicos como diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças que são comprovadamente associadas a um aparecimento precoce de aterosclerose onde há a expressão de MMP 1 após a formação da lesão aterosclerótica. Na literatura há vários estudos que apresentam o impacto dos diferentes fatores de risco para AVE em diversas populações mundiais. Em sua maioria ressalta-se que, os fatores de risco clássicos para AVE, nominalmente a hipertensão arterial, dislipidemias, obesidade e diabetes (TEIXEIRA, 2003; DE OLIVEIRA, 2012; DE PADUA MANSUR et al ,2002; DOS SANTOS, 2008; CHAVES, 2000), estes fatores se mostraram presentes nos indivíduos deste estudo .

Também é importante notar que a degradação da matriz é determinada não apenas pela expressão de metaloproteinases, mas também pela ativação das enzimas no espaço extracelular, o grau de inibição por inibidores endógenos e a presença e atividade de enzimas que não degradam a matriz de metaloprotease. Uma maior compreensão do equilíbrio da degradação da matriz na placa fibrosa em regiões de alto estresse pode fornecer informações sobre por que algumas placas se rompem e outros permanecem estáveis (NEWBY,2005).

Na literatura, há relatos de que este resultado pode ter papel protetor, e relatos que apresentam este dado como papel indutor de

acidentes cerebrovasculares,tornado-se necessária a realização de novos estudos de coorte para avaliar o aparecimento de eventos cerebrovasculares em indivíduos com a expressão de MMP 1 aumentada em placas ateroscleróticas.

## **6-CONCLUSÃO**

Neste estudo verificou-se que sujeitos portadores de alelo envolvido com menor expressão de MMP-1 apresentam proporcionalmente maior espessura da camada médio-intimal da carótida esquerda, estando este achado associado a um maior risco para eventos cerebrovasculares. Em desequilíbrio, a atividade de MMP-1 em ateroma avançado pode ser um dos fatores que contribuem para a instabilidade da placa, e assim presumimos que o aumento da expressão de MMP-1 nos estágios iniciais da aterogênese pode ser uma resposta adaptativa benéfica.

## 7-REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Luciano Cabral et al. Vulnerabilidade da doença aterosclerótica de carótidas: do laboratório à sala de cirurgia - parte 1. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.127-135, jun. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-76382006000200004>.

ANDRADE, Cláudio Augusto de Oliveira. **AVALIAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA ÍNTIMA-MÉDIA DE CARÓTIDAS, EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES, COM E SEM OBESIDADE**. 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado na Grande área da Saúde, Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2012.

Avezum, A., Lilia Nigro Maia, and Marcelo Nakazone. "Cenário das doenças cardiovasculares no mundo moderno." *Manual de cardiologia*. Bartueri: ATHENEU (2012).

BERTINI, Paulo José. **Detecção não Invasiva de placas ateroscleróticas e do remodelamento de artérias coronárias**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Título de Doutor em Ciências, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Brasil - Ministério da Saúde - **DATASUS .Informações de Saúde – Indicadores e Dados Básicos – IDB 2011** .Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6937&VObj=h> <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10>.

CHAVES, Márcia LF. Acidente vascular encefálico: conceituação e fatores de risco. **Rev Bras Hipertens**, v. 7, n. 4, p. 372-82, 2000.

CHEN, y et al. Influence of variations across the MMP-1 and -3 genes on the serum levels of MMP-1 and -3 and disease activity in rheumatoid arthritis. **Genes And Immunity**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.29-37, 14 jul. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2011.46>.

CHENG, Yu-Ching et al. Genome-wide Association Scan Identifies Variants near Matrix Metalloproteinase (MMP) Genes on Chromosome 11q21–22

Strongly Associated with Serum MMP–1 Levels. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, p. CIRCGENETICS. 108.834986, 2009.

COHEN, Carolina Rodrigues et al. ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS E DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ 1, 3 E 9 COM SANGRAMENTO INTRA-PLACA DA CARÓTIDA. **Salão de Iniciação Científica (21.: 2009 out. 19-23: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2009.**, 2009.

DA SILVA, Sandra Huber; MORESCO, Rafael Noal. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia medica**, v. 21, n. 3, 2011.

Davies MJ. Coronary disease: the pathophysiology of acute coronary syndromes. **Heart** 83: 361–366, 2000.

DE OLIVEIRA, Renata Rodrigues . **ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM ADULTOS JOVENS**. 2012. 13 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Fisioterapia Neurológica, Centro de Estudos Avançados e Formação Integrada, Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2012.

DE PADUA MANSUR, Antonio et al. Tendência do risco de morte por doenças circulatórias, cerebrovasculares e isquêmicas do coração em 11 capitais do Brasil de 1980 a 1998. **Arq Bras Cardiol**, v. 79, n. 3, p. 269-76, 2002.

DOEVENDANS, Pieter A. et al. Molecular genetics and gene expression in atherosclerosis. **International journal of cardiology**, v. 80, n. 2, p. 161-172, 2001.

DOS SANTOS, Maria Gisele et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v. 90, n. 4, p. 301-308, 2008.

FONSECA, Álvaro Luís Muller da et al. **Metaloproteinases de matriz e incorporação de colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL) na doença carotídea**. 2012. Tese de Doutorado.

Freitas MPD, Loyola Filho AI, Lima-Costa MF. **Dislipidemia e risco de incidência de hipertensão em uma população de idosos brasileiros vivendo em comunidade: Coorte de Idosos de Bambuí.** *Cad Saude Pública*, 2011.

GOTTLIEB, Maria GV; BONARDI, Gislaine; MORIGUCHI, EMÍLO H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. *Scientia Medica*, v. 15, n. 3, p. 203-207, 2005.

HUANG, Hsuan-li et al. Genetic variants associated with circulating MMP1 levels near matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q21-22 in Taiwanese: interaction with obesity. *Bmc Medical Genetics*, [s.l.], v. 14, n. 1, 4 mar. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-14-30>.

LEE, Richard T. et al. Circumferential Stress and Matrix Metalloproteinase 1 in Human Coronary Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, [s.l.], v. 16, n. 8, p.1070-1073, ago. 1996. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.16.8.1070>.

LEHRKE, Michael et al. MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans. *Cardiovascular diabetology*, v. 8, n. 1, p. 50, 2009.

LEHRKE, Michael; Martin GREIF; Uli C BROEDL; Corinna LEBHERZ; Rüdiger P LAUBENDER; Alexander BECKER; Franz von ZIEGLER; Janine TITTUS; Maximilian REISER; Christoph BECKER; Burkhard GÖKE; Gerhard STEINBECK; Alexander W LEBER; Klaus G PARHOFER. **MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans.** *Cardiovascular Diabetology*, v.8, n.1, p.e50, 2009.

LEMAÎTRE, Vincent et al. ApoE knockout mice expressing human matrix metalloproteinase-1 in macrophages have less advanced atherosclerosis. *Journal Of Clinical Investigation*, [s.l.], v. 107, n. 10, p.1227-1234, 15 maio 2001. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci9626>.

LIBBY, Peter; RIDKER, Paul M.; MASERI, Attilio. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, v. 105, n. 9, p. 1135-1143, 2002.



Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;**115**:459-467.

MALLAT, Ziad. Matrix metalloproteinase-8 and the regulation of blood pressure, vascular inflammation, and atherosclerotic lesion growth. 2009. ZANCHETTI, Alberto et al. Risk factors associated with alterations in carotid intima—media thickness in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis. **Journal of hypertension**, v. 16, n. 7, p. 949-961, 1998.

NEWBY, Andrew C. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. **Physiological reviews**, v. 85, n. 1, p. 1-31, 2005.

NEWBY, Andrew C. Metalloproteinases and vulnerable atherosclerotic plaques. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 17, n. 8, p. 253-258, 2007.

NIKKARI, S. T. et al. **Interstitial Collagenase (MMP-1) Expression in Human Carotid Atherosclerosis**. *Circulation*, [s.l.], v. 92, n. 6, p.1393-1398, 15 set. 1995. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.92.6.1393>

OMS - Organização Mundial da Saúde. Disponível em <http://www.who.int/topics/ageing/en/>.

SÁ, Ana Carolina Marques. O Papel dos Polimorfismos Genéticos na Doença Cardíaca Isquêmica. 2011.

SANTOS, Alexandre Leme Godoy dos. **Papel do polimorfismo genético na expressão das metaloproteases na tendinopatia primária do tendão tibial posterior**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SANTOS, Maria Gisele dos et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 90, n. 4, abr. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2008000400012>.

Tabela 1. Variáveis Antropométricas, clínicas e metabólicas da amostra.

TEIXEIRA, E. et al. **Acidente vascular encefálico. Ares MJJ. Terapia ocupacional na reabilitação física.** São Paulo: Roca, p. 3-16, 2003.

VELHO, Fábio Michalski. **Papel de polimorfismos das metaloproteinases de matriz na insuficiência cardíaca sistólica na suscetibilidade à doença, nas características fenotípicas e no prognóstico.** 2010. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina, Papel de Polimorfismos das Metaloproteinases de Matriz na Insuficiência Cardíaca Sistólica na Suscetibilidade à Doença, nas Características Fenotípicas e no Prognóstico, Porto Alegre, 2010

WORLD HEALTH ORGANIZATION. VIOLENCE; INJURY PREVENTION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on road safety 2013: supporting a decade of action.** World Health Organization, 2013.

YE, S. Variation in the matrix metalloproteinase-1 gene and risk of coronary heart disease. **European Heart Journal**, [s.l.], v. 24, n. 18, p.1668-1671, set. 2003. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/s0195-668x\(03\)00385-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0195-668x(03)00385-3).

ZANCHETTI, Alberto et al. Risk factors associated with alterations in carotid intima—media thickness in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis. **Journal of hypertension**, v. 16, n. 7, p. 949-961, 1998.

## 8-ANEXOS

### 8.1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

---

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB**  
**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA – UCB**  
**INSTITUTO DE CARDIOLOGIA - BIOCÁRDIOS**

---

**Associação de marcadores imunológicos e genômicos com doença aterosclerótica no paciente ambulatorial idoso.”**

O envelhecimento pode ocasionar doenças ou o agravamento de suas manifestações no organismo, diminuindo a qualidade de vida da pessoa. Por isso, nós do Instituto de Cardiologia BIOCÁRDIOS no Distrito Federal e do Hospital da Universidade Católica de Brasília (HUCB), em conjunto com pesquisadores da Universidade de Brasília (UnB), estamos trabalhando na busca por exames clínicos e de laboratório que permitam antever o desenvolvimento de doenças associadas ao envelhecimento, sobretudo aquelas doenças relacionadas a problemas em importantes artérias do corpo humano, a exemplo da artéria coronariana e das artérias carotídeas.

Assim sendo, com o objetivo de encontrar características do organismo que possam contribuir para o diagnóstico precoce de distúrbios nestas artérias, necessitamos do seu consentimento para realizarmos uma avaliação médica e por exames laboratoriais, incluindo avaliações por ultrasonografia, tomografia computadorizada, exames de sangue e testes genéticos. Esta pesquisa poderá possibilitar uma melhoria da compreensão do processo de envelhecimento e o ser humano, o que por sua vez permitirá melhorar o atendimento e o aconselhamento prestados aos idosos assistidos tanto pelos programas públicos e quanto privados de saúde.

Dependendo dos resultados e da avaliação, o(a) senhor(a) poderá ser incluído no grupo de portadores ou não-portadores de uma doença ou achado clínico importante sobre as artérias estudadas.

**Termo de consentimento livre e esclarecido**

Fui informado que o protocolo experimental consistirá basicamente em uma avaliação médica e por exames laboratoriais e por imagem, e que tais procedimentos não comprometerão minhas atividades cotidianas e não serão diferentes daqueles procedimentos rotineiramente recomendados pela prática clínica moderna. Durante as consultas, responderei perguntas sobre os medicamentos que utilizo, como sigo o(s) tratamento(s) recomendado(s), do que me alimento e em quais quantidades, mas terei plena liberdade de me recusar a responder caso eu não queira. Fui informado(a) ainda que este trabalho não oferecerá riscos expressivos à minha saúde, já que não realizarei movimentos anormais, não terei mudança de rotina, não entrarei em contato com quaisquer substâncias nocivas, nem terei qualquer instrumento introduzido em meu corpo, a não ser por ocasião de uma única coleta de um pequeno volume (15 mililitros) de sangue, onde me será assegurada utilização de agulhas descartáveis. A equipe do projeto se responsabilizou por prestar esclarecimentos a mim a qualquer momento da pesquisa, inclusive relativos a exames de laboratório realizados, disponibilizando para tanto as formas de contato presentes no rodapé desta página.

O pesquisador garantiu sigilo sobre minha identidade, ficando os dados sob sua guarda, não sendo permitido acesso por pessoas não relacionadas à pesquisa. O pesquisador responsabilizou-se por qualquer dano que eu venha a sofrer, e também explicou que as amostras coletadas poderão ser estocadas para outras pesquisas, mas que serei contatado para conceder minha autorização para cada nova utilização.

Assim, por este documento, dou meu consentimento à exploração dos dados coletados por este projeto de pesquisa.

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Nome do paciente

\_\_\_\_\_  
Nome do profissional que prestou informações

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do profissional que prestou informações

## 8.2-Ficha Clínica/ Anamnese

HOSPITAL DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
Curso de Medicina - Disciplina de Geriatria/Gerontologia

FICHA CLÍNICA/ANAMNESE

**1. IDENTIFICAÇÃO**

NOME \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_ DATA NASC: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

MASC  FEM  Circunf. Abdom.: \_\_\_\_\_ cm

PESO: \_\_\_\_\_ kg ALTURA: \_\_\_\_\_ m IMC: \_\_\_\_\_  
(kg/m<sup>2</sup>)

PAS: \_\_\_\_\_ mmHg PAD: \_\_\_\_\_ mmHg

**2. COMORBIDADES**

- Hipertensão arterial       Dislipidemia       CA \_\_\_\_\_       AIT  
 Diabetes mellitus II       AVE       IAM       DAC (angina)

Medicamento(s): *somente utilização de anti-hipertensivos, anti-diabéticos e hipolipemiantes*

Princípio ativo	Posologia	Dose diária

**3. HISTÓRIA SOCIAL**

- Tabagismo: Por qtos anos \_\_\_\_\_       Etilismo: Por qtos anos \_\_\_\_\_  
 Sedentário       Exercícios físicos regulares

**EXAMES LABORATORIAIS:**


TSH:	HEMOGLOBINA:		
PCR US:	HOMOCISTEÍNA:		
CREATININA:	COCKCROFT-GAULT:		
COL.TOTAL:	TRIGLIC:		
HDL:	LDL:		
VLDL:	GAMA GT:		
GLICEMIA:	INSULINEMIA:	TGO:	TGP:
HbA1c:	HOMA:		
<b>ECG:</b>			

**IMAGEM:**

ECODOPPLER DAS CARÓTIDAS:


\_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Médico

### 8.3 Termo de Aprovação do Comitê de Ética

  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

---

#### ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

**Registro de Projeto:** CEP-FM 061/2011.

**Título:** "Associação de marcadores imunológicos e genômicos com doença aterosclerótica no paciente ambulatorial idoso".

**Pesquisador Responsável:** Otávio de Tolêdo Nóbrega.

**Documentos analisados:** Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo (s) de pesquisador (es).

**Data de entrega:** 22/08/2011.

Parecer do (a) relator (a)

**Aprovação**

**Não aprovação.**

**Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB:** 10/10/2011.

**Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB:** 26/12/2011.

---

#### PARECER

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, a coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR** "ad referendum" do CEP-FM, conforme parecer do (a) relator (a), o projeto de pesquisa acima especificado quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM, sendo o 1º previsto para 20 de julho de 2012.

Brasília, 18 de Janeiro de 2012.

  
**Prof. Elaine Maria de Oliveira Alves**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
Faculdade de Medicina-UNB

#### 8.4-Artigo

## **ESTUDO DE VARIANTES ALÉLICAS DA MMP1 E FATORES DE RISCO CEREBROVASCULAR EM IDOSOS DO DISTRITO FEDERAL**

### **RESUMO**

Devido a alta incidência de doenças vasculares, torna-se necessário o conhecimento de novos marcadores circulantes ou estruturais para predição de risco para doenças crônicas. Alguns estudos sugerem que polimorfismos no gene da MMP1 estão associados com níveis de expressão da enzima *in situ* (ex.: em placas ateroscleróticas). Assim, o estudo deste polimorfismo pode facilitar a compreensão da fisiopatologia da doença coronária. Realizamos análises transversais de avaliações clínicas e laboratoriais, incluindo medição da espessura íntima-média das carótidas e genotipagem para o SNP rs495366 em 366 pessoas com idade igual ou superior a 60 anos. Não houve diferenças significativas entre grupos para variáveis bioquímicas e metabólicas e clínicas, a não ser por uma importante diferença em espessura médio-intimal encontrada sobre a artéria carótida esquerda assim como uma tendência à significância no tocante à espessura da carótida direita. O grupo com menor nível de expressão de MMP 1 (grupo A) apresentou uma espessura carotídea maior comparada aos indivíduos GG. Este evento pode ser explicado pela degradação das fibras de colágeno exercida pela MMP1. Este fato permite o espessamento carotídeo ao causar um remodelamento vascular positivo. O crescimento da placa arterooclerótica reduz de forma progressiva a função anticoagulante das células endoteliais, tornando o vaso mais suscetível a ruptura. Neste estudo verificou-se que sujeitos portadores de alelo envolvido com menor expressão de MMP-1 apresentam proporcionalmente maior espessura da camada médio-intimal da carótida esquerda, estando este achado associado a um maior risco para eventos cerebrovasculares.

**Palavras chaves:** Metaloproteinase de Matriz do tipo 1, Risco cerebrovascular, Espessura íntima-média da artéria carótida, Vulnerabilidade da placa aterosclerótica, Matriz extracelular vascular.

### **ABSTRACT**

Due to high incidence of vascular diseases, it is necessary to the knowledge of new circulating markers or risk prediction for chronic diseases. Some studies suggest that polymorphisms of MMP1 gene are associated with levels of expression of the enzyme in situ (e.g. in atherosclerotic plaques). Thus, the study of this polymorphism can facilitate the understanding of the pathophysiology of coronary disease. We perform analyses of cross-sectional clinical and laboratory evaluations, including measurement of the thickness of the carotid and middle-intimate intima-media thickness to the SNP in rs495366 366 people aged 60 years or more. There were no significant differences between groups for biochemical and metabolic and clinical variables, except for one important difference in intima-media thickness found on the left carotid artery as well as a trend toward significance regarding the thickness of the right carotid. The group as a lower level of expression of MMP 1 (Group A) presented a carotid thickness greater compared to individuals GG. This event can be explained by the breakdown of collagen fibers exerted by MMP1. This fact allows the thickening carotídeo to cause a positive vascular remodeling. The growth of the arterooclerótica plate reduces progressively the anticoagulant function of endothelial cells, making the vase more susceptible to rupture. In this study it was found that subjects involved with the lowest allele carriers expression of MMP-1 feature proporcionalmente biggest thickness of carotid intima-media layer esquerda, and this finding is associated with a higher risk for cerebrovascular events.

**Key words:** matrix Metalloproteinase 1, cerebrovascular Risk type, thickness close-carotid artery average, vulnerability of atherosclerotic plaque, vascular extracellular matrix.

## 1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que 60% das mortes no mundo são decorrentes de doenças crônicas, principalmente doenças cardiovasculares, e estima que em 2020 esse índice será de 80% nos países em desenvolvimento (AVEZUM et al,2012). No Brasil, cerca de um terço das mortes de indivíduos acima dos 60 anos de idade tem causas por distúrbios vasculares, proporção semelhante à que ocorre no Distrito Federal (BRASIL, 2011). Distúrbios vasculares apresentam fatores de risco clínicos que

contribuem para a progressão das doenças e mortalidade dos pacientes acometidos, a exemplo de obesidade, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemias, além de contribuintes genéticos. Neste contexto, podemos destacar a arteriosclerose como achado subjacente ao desencadear a maior proporção de casos de doenças cardiovasculares (FONSECA, 2012).

A aterosclerose resulta de um processo inflamatório crônico dentro da parede arterial iniciado principalmente em resposta a estruturas modificadas endogenamente, particularmente lipoproteínas oxidadas. É amplamente reconhecido que a estimulação por mediadores circulantes das respostas imunes inatas e adaptativas leva a uma maior alteração da parede vascular, promovendo a progressão da doença e complicações (MALLAT,2009) com evidências de que o desequilíbrio entre fatores pró- e anti-inflamatórios desempenha um papel crítico na disfunção endotelial vascular precoce (NEWBY,2005).

A aterosclerose é processo progressivo e irreversível, resultante de uma série de contribuintes celulares e moleculares específicos (GOTTLIEB,2005), e que afeta artérias grandes e médias, de naturezas elástica ou muscular. A principal preocupação consiste na possibilidade de causar trombose ou estenose grave nas artérias, levando a eventos adversos de risco à vida como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e lesões isquêmicas de rins e intestinos, além de outras manifestações. Evitar a morte e a morbidade por causas circulatórias justifica grande interesse na identificação de pacientes assintomáticos em risco. Neste sentido, o espessamento da camada médio-intimal da artéria carótida comum consiste em um biomarcador subclínico conhecido, de fácil aferição e capacidade preditiva razoável para eventos vasculares importantes (Sua avaliação por ultrassonografia tem baixo custo e caráter não invasivo (ANDRADE,2012).

O desenvolvimento de uma placa aterosclerótica vulnerável envolve intensa inflamação, com presença de linfócitos, macrófagos e mastócitos. Neste meio, costuma haver secreção de metaloproteinases de matriz (MMPs) pelos macrófagos que, de forma progressiva, degradam os componentes colagenosos da cápsula fibrosa. As MMPs são endopeptidases que possuem zinco e/ou cálcio em sítio ativo, e degradam proteínas de matriz extracelular



como fibras de colágenon comprometendo a integridade da membrana basal do endotélio e a estabilidade da placa com risco de ruptura dos ateromas avançados (DA SILVA,2011; FONSECA, 2012).

O estudo da expressão das metaloproteinases de matriz torna-se importante para o entendimento dos processos biológicos como a diferenciação e função celular relacionados aos processos patológicos (SANTOS,2011), como da doença arterial coronariana. (HORNE,2008). Há relato de que a expressão do gene MMP1 pode ser influenciada por polimorfismo de inserção de base única sobre a região promotora do gene, localizado à 11q22.3, e que resulta em maior expressão de MMP1 pela variante alélica que contém inserção. (SANTOS,2011; HUANG et al, 2013).

Devido a alta incidência de doenças vasculares, torna-se necessário o conhecimento de novos marcadores circulantes ou estruturais para predição de risco para doenças crônicas. Alguns estudos sugerem que polimorfismos no gene da MMP1 estão associados com níveis de expressão da enzima, tando *in situ* (ex.: em placas ateroscleróticas) (HUANG et al., 2013)Cheng e colaboradores, ao usar uma estratégia de varredura genômica de alto desempenho encontrou evidência de uma associação entre o SNP rs495366 do gene MMP1 e os níveis de expressão do gene (Assim, o estudo deste polimorfismo pode facilitar a compreensão da fisiopatologia da doença coronária. O objetivo geral deste estudo consistiu em verificar a associação entre genótipos do polimorfismo rs495366 do gene para MMP-1 com fatores de risco vascular encontrados em amostra da população idosa do Distrito Federal.

## **2. METODOLOGIA**

### ***Amostra***

Uma amostra de pacientes não institucionalizados com idade igual ou superior a 60 anos, sem sintomas clínicos de aterosclerose grave, recrutados entre 2011 e 2013 em dois ambulatorios de geriatria geral [Serviço de Geriatria da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Centro de Geriatria da Universidade de Brasília (UnB)] localizados na Região Metropolitana do Distrito Federal, com o objetivo de avaliar risco para eventos vasculares por meio de uma avaliação transversal. Pacientes recrutados na UnB foram direcionados

para o HUCB para fins de possibilitar uma avaliação de base padronizada, com protocolo clínico conduzido pela mesma equipe.

Critérios de inclusão consistiram essencialmente em o paciente buscar espontaneamente cuidados primários ou secundários para eventos circulatórios. Os critérios de exclusão para integrar essas análises consistiram em apresentar (i) história clínica de doença autoimune ou neoplasias de qualquer tipo, atual ou progressiva, (ii) relato de condição pulmonar compatível com obstrução grave sintomática, (iii) doença renal crônica grave expressa por depuração de creatinina  $< 25 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , e/ou (iv) história clínica de infecções recorrentes ou inflamação crônica.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UnB, sob o protocolo 061/2011. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

### ***Avaliações clínicas e bioquímicas***

O exame clínico consistiu em uma inspeção geral do paciente, com aferição da pressão arterial (PA) de repouso, ausculta cardíaca e pulmonar; palpação superficial e profunda do abdome, inspeção dos membros inferiores e a palpação digital dos mesmos, segundo normas semiológicas de rotina. Foi realizado também um levantamento sobre o perfil socioeconômico e dos medicamentos utilizados, com registro dos princípios ativos consumidos e sua classificação. Eventos circulatórios prévios como infarto do miocárdio ou cerebrovascular bem como aspectos de estilo de vida como sedentarismo e tabagismo foram registrados.

O diagnóstico de diabetes tipo 2 conciliou auto-relato da condição com dosagem hemoglobina glicada em jejum (Hb1Ac)  $\geq 6,5\%$ , com ou seu consumo de hipoglicemiantes ou insulina (13). Os praticantes de exercícios físicos foram aqueles que exibiram 30 minutos ou mais de exercícios por ao menos quatro dias da semana, enquanto o hábito de fumar foi definido como consumo  $> 100$  cigarros ao longo da vida. Para análise metabólica, foram obtidas as seguintes medidas de acordo com a bioquímica clínica de rotina e expressas em unidades padrão: glicemia, hemoglobina glicada (HbA1c), colesterol total e frações, triglicérides, proteína C reativa de alta sensibilidade e TSH. As

análises antropométricas avaliaram o índice de massa corporal (IMC, em  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) e a circunferência da cintura (cm) de cada sujeito.

### ***Medição da espessura íntima-média***

O exame clínico consistiu em uma inspeção geral do paciente, com aferição da pressão arterial (PA) de repouso, ausculta cardíaca e pulmonar; palpação superficial e profunda do abdome, inspeção dos membros inferiores e a palpação digital dos mesmos, segundo normas semiológicas de rotina. Foi realizado também um levantamento sobre o perfil socioeconômico e dos medicamentos utilizados, com registro dos princípios ativos consumidos e sua classificação. Eventos circulatórios prévios como infarto do miocárdio ou cerebrovascular bem como aspectos de estilo de vida como sedentarismo e tabagismo foram registrados.

O diagnóstico de diabetes tipo 2 conciliou auto-relato da condição com dosagem hemoglobina glicada em jejum ( $\text{Hb1Ac}$ )  $\geq 6,5\%$ , com ou seu consumo de hipoglicemiantes ou insulina (13). Os praticantes de exercícios físicos foram aqueles que exibiram 30 minutos ou mais de exercícios por ao menos quatro dias da semana, enquanto o hábito de fumar foi definido como consumo  $> 100$  cigarros ao longo da vida. Para análise metabólica, foram obtidas as seguintes medidas de acordo com a bioquímica clínica de rotina e expressas em unidades padrão: glicemia, hemoglobina glicada ( $\text{HbA1c}$ ), colesterol total e frações, triglicérides, proteína C reativa de alta sensibilidade e TSH. As análises antropométricas avaliaram o índice de massa corporal (IMC, em  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) e a circunferência da cintura (cm) de cada sujeito.

### ***Genotipagem de MMP1***

DNA genômico total foi obtido com kit comercial para extração (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Brasil). A genotipagem foi realizada utilizando-se da técnica de qPCR (PCR em tempo real) em equipamento QuantStudio 3 Real-Time PCR System, com reagente TaqMan® Universal Master Mix e ensaio específico para o SNP rs495366 da empresa ThermoFisher (Massachusetts, USA) com os iniciadores TTGACCTAAATTTCTGCAA ACTATA[G ou A]TCTTATGGTTATGACTCTTTTTGT para os alelos G [FAM] e A [VIC],

respectivamente. Tempo de ciclagem e número de ciclos padrão ocorreram como sugeridos pelo equipamento.

### ***Avaliações inflamatórias***

Por ocasião das avaliações bioquímicas, o sangue total foi retirado e o soro obtido foi mantido congelado a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  até ser descongelado para a avaliação dos mediadores imunológicos. As concentrações de citocinas foram avaliadas por ensaios imunoenzimáticos tradicionais (ELISA) usando kits específicos fabricados pela BD Biosciences (San Diego, CA, EUA), usados conforme protocolos do fabricante.

Resumidamente, cada amostra de soro foi processada em duplicata conjuntamente com amostra-padrão do mediador fornecido pelo kit, e as leituras foram obtidas em equipamento BioTek<sup>®</sup> (Winooski, VT, EUA). Curvas-padrão para cada citocina foram geradas por regressão linear e a concentração em cada soro foi determinada por interpolação a partir da curva correspondente.

### ***Análise estatística***

Com o objetivo de avaliar a ocorrência de diferenças entre medidas clínicas, bioquímicas e antropométricas na amostra conforme genótipos de MMP-1, nossas análises estatísticas compararam medidas de tendência central pelo teste de Mann-Whitney (variáveis contínuas) ou frequências pelo teste do qui-quadrado. A distribuição normal de todas as variáveis foi avaliada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para estas análises, foi adotado  $P \leq 0,05$  como limiar de significância. Todas as análises foram realizadas com o Pacote Estatístico para as Ciências Sociais (SPSS) para Windows (versão 17.0).

## **4. RESULTADOS**

Participaram do estudo 366 pessoas com idade igual ou superior a 60 anos, sem sintomas clínicos de aterosclerose grave, atendidos no ambulatórios de geriatria geral do Serviço de Geriatria da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Centro de Geriatria da Universidade de Brasília (UnB). Quando genotipados para o SNP rs495366, homozigotos para o alelo A se mostraram em minoria ( $n = 30$ ), de modo a serem acrescentados ao grupo heterozigótico para

compor grupo único (n = 174) de portadores do genótipo A\_, com idade média de 79,5 anos e com 32,2 % do sexo masculino. O grupo de portadores do genótipo GG foi composto por 192 pacientes com média etária e proporção de sexo masculino semelhantes. As proporções dos genótipos não violaram os princípios de distribuição de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ).

As estatísticas inferenciais sobre as variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas analisaram indivíduos conforme portadores do genótipo A\_ (incluídos heterozigotos e homozigotos para o alelo A) ou do genótipo GG, e são apresentados à Tabela 1. Em termos meramente descritivos, a amostra revelou-se marcada por escores representativos de uma elevada prevalência de distúrbios bioquímicos e metabólicos como sobrepeso, diabetes, dislipidemia e hipertensão arterial, características esperadas por se tratar de indivíduos idosos em contexto de país em desenvolvimento. No entanto, não foram encontradas variações em frequências ou valores médios destes achados conforme genótipos de MMP1.

Do mesmo modo que ocorrido para variáveis bioquímicas e metabólicas, não houve diferenças significativas entre grupos para variáveis clínicas, a não ser por uma importante diferença em espessura médio-intimal encontrada sobre a artéria carótida esquerda ( $p = 0.041$ ) assim como uma tendência à significância no tocante à espessura da carótida direita ( $p = 0.087$ ). Em variáveis comportamentais de risco para eventos vasculares, como sedentários ou tabagismo, não houve níveis de diferenças compatíveis com significância estatística ou clínica.

## 5. DISCUSSÃO

Vários fatores genéticos são considerados determinantes para o desenvolvimento de doença aterosclerótica. Cerca de 400 genes podem estar envolvidos na regulação de vários fatores como a função endotelial, da coagulação, da inflamação e do metabolismo de lípidos (DOEVENDANS et al, 2001). Entre estes, destacamos em nossa pesquisa o polimorfismo da MMP-1 (colagenase-1) pelo fato de o desequilíbrio de sua atividade ser apontado pela literatura como um fator que contribui para a instabilidade da placa no ateroma (YEA S, 2003).

No entanto, pensa-se que a expressão aumentada de MMP-1 nos estágios iniciais pode ser uma resposta benéfica, atrasando a evolução para eventos tromboembólicos (YEA S.,2003).

Considerando que já foi demonstrado que uma elevação em espessura carotídea da ordem de 0,10 mm aumenta tanto o risco de eventos vasculares como infarto agudo do miocárdio (hazards ratio = 1,14) quanto de derrame encefálico (hazards ratio = 1,17) (Lorenz et al, 2007), os achados do presente estudo sugerem ser plausível uma contribuição por parte do SNP rs495366 do gene da MMP-1 para determinação da espessura carotídea.

Estudos têm evidenciado que os polimorfismos nas regiões promotoras dos genes da MMP-1 afetam a expressão gênica e têm sido implicados em doenças cardíacas como o infarto agudo do miocárdio (**CHENG et al,2009**). Nossos resultados apontam para a existência de uma associação entre redução da espessura da camada íntima da carótida esquerda entre indivíduos portadores do genótipo GG do SNP rs495366, assim como uma tendência semelhante referente à carótida direita.

Newby (2005) sugere que pode haver dois estágios que determinam a vulnerabilidade de uma placa de ateroma à ruptura. Na primeira fase, que pode durar muitos anos, a lesão acumula um núcleo necrótico sob uma tampa fibrosa, e a MMP-1 derivada de células musculares lisas enfraquece regiões de alto estresse. Na segunda etapa, que é provavelmente mais aguda, a lesão acumula macrófagos que aceleram o processo de degradação da matriz na localização da ruptura. A descrição recente de um estado inflamatório sistêmico em algumas síndromes coronárias instáveis é consistente com essa hipótese e com o papel atribuído à MMP1 neste processo patológico (NEWBY,2005). Neste contexto, um determinante para o aparecimento de eventos cerebrovasculares consiste na presença de uma placa aterosclerótica instável, decorrente da aderência dos monócitos com liberação de metaloproteínas que promovem dissolução das fibras conjuntivas da capa fibrosa, predispondo a placa ao rompimento (RABADÃO, 2014, FONSECA, 2012).

As metaloproteínases de matriz (MMPs) podem atuar em conjunto para degradar os principais componentes da matriz extracelular vascular. Todas as células presentes na parede do vaso sanguíneo normal e doente aumentam a

regulação e ativam as MMPs de uma forma múltipla, em parte, por citocinas solúveis e interações célula-célula. A ativação de proformas de MMP requer outras MMPs ou outras classes de protease. A ativação de MMP 1 contribui para o remodelação da parede vascular e conseqüente crescimento da camada íntima em resposta a lesões, principalmente por migração de células musculares lisas vasculares. Neste sentido, é plausível que a associação observada decorra de uma capacidade prejudicada de promoção de remodelamento entre portadores do alelo A, implicado com menor expressão tecidual da enzima (NEWBY,2005). Gaubatz et al (2010) sugeriu que uma menor expressão de MMP1 levariam ao um acúmulo de proteínas da matriz extracelular, contribuindo para a formação precoce de lesões vasculares e para mudanças estruturais que promovem ruptura de placas de ateroma. O papel protetor da expressão de MMP 1 pelo alelo G foi sugerido nos estudos de Lemaître et al. (2001) e por Ye (2003), pois estes sugerem que uma maior expressão de MMP-1 durante a aterogênese resulta em lesões menores e menos avançadas com menor teor de colágeno, o que sugere que um aumento da degradação da matriz de colágeno atrasa a progressão da aterogênese, apresentando-se como lesões mais estáveis.

Assumindo que ambos os grupos genotípicos eram quase iguais em tamanhos, a equação reproduzida por Whitley e Ball, 2002, foi usada para calcular *a posteriori* o poder de nosso estudo para detectar uma alteração na espessura da carótida. Tendo em conta as medidas do ramo esquerdo, a diferença nos valores médios entre os genótipos foi de 0,17 mm, enquanto o desvio padrão geral da variável foi de 0,62 mm, de modo que a diferença padronizada a detectar foi  $0,17 / 0,62 = 0,274 (\approx 0,3)$ . Com isso, o número de participantes necessários em cada grupo para detectar uma diferença com poder discriminatório de 80% e um corte de 5% para significância estatística foi determinado como 176 indivíduos, o que torna nosso estudo muito próximo para ser intitulado como razoavelmente delineado, se não reduzido por apenas dois indivíduos entre os homozigotos G.

Deve-se ressaltar que o aparecimento da placa aterosclerótica é multifatorial, em sua maioria decorrentes de hábitos de vida não saudáveis como dieta rica em lipídeos e carboidratos, sedentarismo e uso de cigarros. Estes hábitos promovem o aumento da incidência de distúrbios metabólicos

como diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças que são comprovadamente associadas a um aparecimento precoce de aterosclerose onde há a expressão de MMP 1 após a formação da lesão aterosclerótica. Na literatura há vários estudos que apresentam o impacto dos diferentes fatores de risco para AVE em diversas populações mundiais. Em sua maioria ressalta-se que, os fatores de risco clássicos para AVE, nominalmente a hipertensão arterial, dislipidemias, obesidade e diabetes (TEIXEIRA, 2003; DE OLIVEIRA, 2012; DE PADUA MANSUR et al ,2002; DOS SANTOS, 2008; CHAVES, 2000), estes fatores se mostraram presentes nos indivíduos deste estudo .

Também é importante notar que a degradação da matriz é determinada não apenas pela expressão de metaloproteinasas, mas também pela ativação das enzimas no espaço extracelular, o grau de inibição por inibidores endógenos e a presença e atividade de enzimas que não degradam a matriz de metaloprotease. Uma maior compreensão do equilíbrio da degradação da matriz na placa fibrosa em regiões de alto estresse pode fornecer informações sobre por que algumas placas se rompem e outras permanecem estáveis (NEWBY,2005).

Na literatura, há relatos de que este resultado pode ter papel protetor, e relatos que apresentam este dado como papel indutor de acidentes cerebrovasculares,tornado-se necessária a realização de novos estudos de coorte para avaliar o aparecimento de eventos cerebrovasculares em indivíduos com a expressão de MMP 1 aumentada em placas ateroscleróticas.

## **6-CONCLUSÃO**

Neste estudo verificou-se que sujeitos portadores de alelo envolvido com menor expressão de MMP-1 apresentam proporcionalmente maior espessura da camada médio-intimal da carótida esquerda, estando este achado associado a um maior risco para eventos cerebrovasculares. Em desequilíbrio, a atividade de MMP-1 em ateroma avançado pode ser um dos fatores que contribuem para a instabilidade da placa, e assim presumimos que o aumento da expressão de MMP-1 nos estágios iniciais da aterogênese pode ser uma resposta adaptativa benéfica.



## 7-REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Luciano Cabral et al. Vulnerabilidade da doença aterosclerótica de carótidas: do laboratório à sala de cirurgia - parte 1. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.127-135, jun. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-76382006000200004>.

ANDRADE, Cláudio Augusto de Oliveira. **AVALIAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA ÍNTIMA-MÉDIA DE CARÓTIDAS, EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES, COM E SEM OBESIDADE**. 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado na Grande área da Saúde, Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2012.

Avezum, A., Lilia Nigro Maia, and Marcelo Nakazone. "Cenário das doenças cardiovasculares no mundo moderno." *Manual de cardiologia*. Bartueri: ATHENEU (2012).

BERTINI, Paulo José. **Detecção não Invasiva de placas ateroscleróticas e do remodelamento de artérias coronárias**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Título de Doutor em Ciências, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Brasil - Ministério da Saúde - **DATASUS .Informações de Saúde – Indicadores e Dados Básicos – IDB 2011** .Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6937&VObj=h> <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sim/cnv/obt10>.

CHAVES, Márcia LF. Acidente vascular encefálico: conceituação e fatores de risco. **Rev Bras Hipertens**, v. 7, n. 4, p. 372-82, 2000.

CHEN, y et al. Influence of variations across the MMP-1 and -3 genes on the serum levels of MMP-1 and -3 and disease activity in rheumatoid arthritis. **Genes And Immunity**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.29-37, 14 jul. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2011.46>.

CHENG, Yu-Ching et al. Genome-wide Association Scan Identifies Variants near Matrix Metalloproteinase (MMP) Genes on Chromosome 11q21–22

Strongly Associated with Serum MMP–1 Levels. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, p. CIRCGENETICS. 108.834986, 2009.

COHEN, Carolina Rodrigues et al. ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS E DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ 1, 3 E 9 COM SANGRAMENTO INTRA-PLACA DA CARÓTIDA. **Salão de Iniciação Científica (21.: 2009 out. 19-23: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2009.**, 2009.

DA SILVA, Sandra Huber; MORESCO, Rafael Noal. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia medica**, v. 21, n. 3, 2011.

Davies MJ. Coronary disease: the pathophysiology of acute coronary syndromes. **Heart** 83: 361–366, 2000.

DE OLIVEIRA, Renata Rodrigues . **ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM ADULTOS JOVENS**. 2012. 13 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Fisioterapia Neurológica, Centro de Estudos Avançados e Formação Integrada, Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2012.

DE PADUA MANSUR, Antonio et al. Tendência do risco de morte por doenças circulatórias, cerebrovasculares e isquêmicas do coração em 11 capitais do Brasil de 1980 a 1998. **Arq Bras Cardiol**, v. 79, n. 3, p. 269-76, 2002.

DOEVENDANS, Pieter A. et al. Molecular genetics and gene expression in atherosclerosis. **International journal of cardiology**, v. 80, n. 2, p. 161-172, 2001.

DOS SANTOS, Maria Gisele et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v. 90, n. 4, p. 301-308, 2008.

FONSECA, Álvaro Luís Muller da et al. **Metaloproteinases de matriz e incorporação de colesterol na lipoproteína de alta densidade (HDL) na doença carotídea**. 2012. Tese de Doutorado.

Freitas MPD, Loyola Filho AI, Lima-Costa MF. **Dislipidemia e risco de incidência de hipertensão em uma população de idosos brasileiros vivendo em comunidade: Coorte de Idosos de Bambuí.** *Cad Saude Pública*, 2011.

GOTTLIEB, Maria GV; BONARDI, Gislaine; MORIGUCHI, EMÍLO H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. *Scientia Medica*, v. 15, n. 3, p. 203-207, 2005.

HUANG, Hsuan-li et al. Genetic variants associated with circulating MMP1 levels near matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q21-22 in Taiwanese: interaction with obesity. *Bmc Medical Genetics*, [s.l.], v. 14, n. 1, 4 mar. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-14-30>.

LEE, Richard T. et al. Circumferential Stress and Matrix Metalloproteinase 1 in Human Coronary Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, [s.l.], v. 16, n. 8, p.1070-1073, ago. 1996. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.16.8.1070>.

LEHRKE, Michael et al. MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans. *Cardiovascular diabetology*, v. 8, n. 1, p. 50, 2009.

LEHRKE, Michael; Martin GREIF; Uli C BROEDL; Corinna LEBHERZ; Rüdiger P LAUBENDER; Alexander BECKER; Franz von ZIEGLER; Janine TITTUS; Maximilian REISER; Christoph BECKER; Burkhard GÖKE; Gerhard STEINBECK; Alexander W LEBER; Klaus G PARHOFER. **MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans.** *Cardiovascular Diabetology*, v.8, n.1, p.e50, 2009.

LEMAÎTRE, Vincent et al. ApoE knockout mice expressing human matrix metalloproteinase-1 in macrophages have less advanced atherosclerosis. *Journal Of Clinical Investigation*, [s.l.], v. 107, n. 10, p.1227-1234, 15 maio 2001. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci9626>.

LIBBY, Peter; RIDKER, Paul M.; MASERI, Attilio. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, v. 105, n. 9, p. 1135-1143, 2002.

Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;**115**:459-467.

MALLAT, Ziad. Matrix metalloproteinase-8 and the regulation of blood pressure, vascular inflammation, and atherosclerotic lesion growth. 2009. ZANCHETTI, Alberto et al. Risk factors associated with alterations in carotid intima—media thickness in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis. **Journal of hypertension**, v. 16, n. 7, p. 949-961, 1998.

NEWBY, Andrew C. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. **Physiological reviews**, v. 85, n. 1, p. 1-31, 2005.

NEWBY, Andrew C. Metalloproteinases and vulnerable atherosclerotic plaques. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 17, n. 8, p. 253-258, 2007.

NIKKARI, S. T. et al. **Interstitial Collagenase (MMP-1) Expression in Human Carotid Atherosclerosis**. *Circulation*, [s.l.], v. 92, n. 6, p.1393-1398, 15 set. 1995. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.92.6.1393>

OMS - Organização Mundial da Saúde. Disponível em <http://www.who.int/topics/ageing/en/>.

SÁ, Ana Carolina Marques. O Papel dos Polimorfismos Genéticos na Doença Cardíaca Isquêmica. 2011.

SANTOS, Alexandre Leme Godoy dos. **Papel do polimorfismo genético na expressão das metaloproteases na tendinopatia primária do tendão tibial posterior**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SANTOS, Maria Gisele dos et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 90, n. 4, abr. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2008000400012>.

Tabela 1. Variáveis Antropométricas, clínicas e metabólicas da amostra.

TEIXEIRA, E. et al. **Acidente vascular encefálico. Ares MJJ. Terapia ocupacional na reabilitação física.** São Paulo: Roca, p. 3-16, 2003.

VELHO, Fábio Michalski. **Papel de polimorfismos das metaloproteinases de matriz na insuficiência cardíaca sistólica na suscetibilidade à doença, nas características fenotípicas e no prognóstico.** 2010. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina, Papel de Polimorfismos das Metaloproteinases de Matriz na Insuficiência Cardíaca Sistólica na Suscetibilidade à Doença, nas Características Fenotípicas e no Prognóstico, Porto Alegre, 2010

WORLD HEALTH ORGANIZATION. VIOLENCE; INJURY PREVENTION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on road safety 2013: supporting a decade of action.** World Health Organization, 2013.

YE, S. Variation in the matrix metalloproteinase-1 gene and risk of coronary heart disease. **European Heart Journal**, [s.l.], v. 24, n. 18, p.1668-1671, set. 2003. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/s0195-668x\(03\)00385-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0195-668x(03)00385-3).

ZANCHETTI, Alberto et al. Risk factors associated with alterations in carotid intima—media thickness in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis. **Journal of hypertension**, v. 16, n. 7, p. 949-961, 1998.

Variáveis	rs495366 genótipos		p
	GG (n = 174)	A_ (n = 192)	
Idade, anos	79.5 ± 9.3	79.2 ± 8.3	0.780
Sexo, %	32.2	28.1	0.398
IMC, kg.m <sup>2</sup>	26.9 ± 4.9	26.9 ± 5.1	0.906
CA, cm	96.3 ± 12.4	94.7 ± 11.4	0.202
Pas, mm Hg	138.8 ± 20.4	142.0 ± 21.2	0.151
Pad, mm Hg	78.1 ± 11.0	77.2 ± 11.5	0.418
HAS, %	76.4	76.0	0.929
Nível de Glicose, mg.dl <sup>-1</sup>	101.8 ± 22.6	105.4 ± 43.0	0.325
HbA1c, %	6,0 ± 0,9	6,1 ± 1,3	0,333
DM2, %	25,3	21,4	0,374
Colesterol total I, mg.dl <sup>-1</sup>	194.4 ± 40.0	203.2 ± 84.2	0.211
Triglicerídeos, mg.dl <sup>-1</sup>	131.5 ± 58.8	135.3 ± 62.6	0.551
HDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	51.7 ± 12.9	51.5 ± 13.2	0.898
LDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	113.2 ± 34.1	115.9 ± 36.2	0.472
VLDL-c, mg.dl <sup>-1</sup>	29.3 ± 13.4	30.0 ± 13.9	0.612
Depuração de creatinina (ml.min <sup>-1</sup> )	60.3 ± 26.4	55.6 ± 24.1	0.176
PC reativa, mg.dl <sup>-1</sup>	1.61 [2.25]	1.70 [3.10]	0.636
TSH, mIU.l <sup>-1</sup>	2.16 [2.05]	2.15 [2.53]	0.976
TNF	0.00 [0.60]	0.00 [0.34]	0.684
IL12	0.00 [8.92]	0.00 [8.93]	0.551
IL10	0.84 [2.84]	1.24 [2.94]	0.599
Sedentários, %	59.2	63.0	0.453
Fumantes, %	19.5	17.2	0.561
Right cIMT, mm	1.28 ± 0.60	1.40 ± 0.66	0.087
Left cIMT, mm	1.27 ± 0.60	1.44 ± 0.64	0.041

Os dados são expressos como média ± desvio padrão para parâmetros contínuos distribuídos normalmente, como frequências relativas dentro do genótipo para características categóricas como mediana e intervalo interquartil entre parênteses para variáveis contínuas não normalmente distribuídas. IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; HbA1c = hemoglobina glicada ; DM2 = diabetes mellitus tipo 2; VLDL-c = colesterol de lipoproteína de densidade muito baixa; LDL-c = colesterol de lipoproteína de baixa densidade; HDL-c = colesterol lipoproteico de alta densidade, PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; HAS = hipertensão arterial sistêmica; PCreativa = proteína C-reativa; TSH = hormônio estimulante da tireoide; EMT = espessura da camada íntima da carótida .