

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB  
CURSO DE FARMÁCIA**

**ANA CAROLINA BRUNO PEREIRA**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO +936C/T DO GENE VEGF EM PACIENTES COM  
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E ANEURISMA  
INTRACEREBRAL**

**BRASÍLIA  
2017**

ANA CAROLINA BRUNO PEREIRA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO +936C/T DO GENE VEGF EM PACIENTES COM  
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E ANEURISMA  
INTRACEREBRAL**

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

**Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Haddad**

BRASÍLIA  
2017

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

PP436a Pereira, Ana Carolina Bruno  
Análise do polimorfismo +936C/T do gene VEGF em  
pacientes com acidente vascular encefálico  
hemorrágico e aneurisma intracerebral / Ana Carolina  
Bruno Pereira; orientador Rodrigo Haddad. --  
Brasília, 2017.  
66 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade  
de Brasília, 2017.

1. Acidente Vascular Encefálico. 2. Aneurisma. 3.  
VEGF +936C/T. 4. Polimorfismo. I. Haddad, Rodrigo,  
orient. II. Título.

ANA CAROLINA BRUNO PEREIRA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO +936C/T DO GENE VEGF EM PACIENTES COM  
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E ANEURISMA  
INTRACEREBRAL**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Haddad  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferreira  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

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

BRASÍLIA  
2017

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, sem Ele nada disso estaria se realizando. Aos meus pais, José Pereira e Maria Dilma, que sempre foram meu alicerce, meu apoio e minha motivação. Agradeço pela paciência, compreensão da minha ausência em muitos momentos e por nunca terem me deixado desistir. Ao meu irmão, Rafael, por sempre acreditar em mim, cuidar, e além de tudo estar sempre comigo nas idas e vindas à faculdade.

A Universidade de Brasília, por ter sido veículo da realização de um sonho e por ter fornecido todo o suporte para isso, além de ter sido um grande desafio.

A minha prima, Eliziane, pelas palavras, atitudes e por todo apoio.

A todos os meus familiares, que mesmo de longe acompanharam o esforço dedicado durante toda a graduação.

Aos professores, essenciais em todos os momentos e que foram além dos ensinamentos acadêmicos. Ensinar-nos sobre a vida, de como o esforço vale a pena e principalmente sobre a persistência e a importância de ser um profissional ético, honesto e acima de tudo, humano.

Aos amigos que fiz, e que se Deus quiser, serão permanentes. Foram indispensáveis, e sem eles, com certeza o período acadêmico não teria sido o mesmo. Agradeço especialmente a Évelin que esteve comigo desde o início de tudo e que permanece até hoje, obrigada pela parceria de sempre.

Ao meu namorado, Ivo, pela companhia, apoio e paciência durante os dias difíceis e por acreditar em mim em todos os momentos.

Ao professor e orientador, Rodrigo Haddad, pela disponibilidade, paciência, e principalmente pela confiança depositada em mim.

Aos professores Eduardo e Izabel, participantes da banca, pela amizade durante a graduação e pela atenção em relação à avaliação deste trabalho.

## RESUMO

**Introdução:** O Aneurisma intracerebral pode ser definido como uma dilatação anormal de uma artéria que faz a irrigação cerebral e torna-se sintomático quando ocorre a ruptura da parede arterial fragilizada levando a eventos hemorrágicos tais como o acidente vascular encefálico Hemorrágico (AVEH). Essas condições vêm se destacando nas últimas décadas por estar entre as principais causas de internações ocasionando na maioria dos acometidos algum tipo de deficiência, seja parcial ou completa. Os fatores de risco para AVEH são multifatoriais e podem ser de origem ambiental ou genética. O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é uma proteína fundamental na manutenção e regulação vascular. Polimorfismos nesse gene estão relacionados com a expressão desse fator, entre eles o polimorfismo +936C/T. Assim, este estudo buscou avaliar a relação deste polimorfismo com o desenvolvimento de AVEH /Aneurisma.

**Metodologia:** Os polimorfismos do gene VEGF foram detectados através da técnica de PCR- RFLP em amostras de pacientes apresentando aneurisma cerebral e AVEH (n=91) e ainda indivíduos saudáveis (n=57).

**Resultados:** O estudo revelou frequências alélicas (+936C) e genotípicas (+936C/C) similares entre grupo caso e controle, não se obtendo significância estatística para nenhum dos grupos analisados. Com relação aos fatores de risco e escalas de comprometimento neurológico e dependência funcional (Escala de Coma de Glasgow, Escala de Rankin, e Índice de Barthel) não foram observados resultados com significância estatística.

**Conclusão:** O presente estudo não revelou o polimorfismo +936C/T como fator de risco para AVEH/Aneurisma.

**Palavras- chave:** Acidente Vascular Encefálico, Aneurisma, VEGF +936C/T, Polimorfismo.

## ABSTRACT

**Introduction:** The intracerebral aneurysm can be defined as an abnormal dilatation of an artery that does the cerebral irrigation and becomes symptomatic when rupture of the weakened arterial wall occurs leading to bleeding events such as hemorrhagic stroke (AVEH). These conditions have been highlighted in the last decades because they are among the main causes of hospitalization, causing in the majority of those affected some kind of disability, either partial or complete. The risk factors for AVEH are multifactorial and may be of environmental or genetic origin. The vascular endothelial growth factor (VEGF) is a key protein in vascular maintenance and regulation. Polymorphisms in this gene are related to the expression of this factor, among them polymorphism +936C/T. Thus, this study sought to evaluate the relationship of this polymorphism with the development of AVEH / Aneurysm

**Methodology:** The VEGF gene polymorphisms are detected by the PCR-RFLP technique in patient samples with Intracerebral Aneurysm and AVEH (n=91) and healthy individuals (n=57).

**Results:** The study revealed allelic (+936C) and genotypic frequencies (+936C/C) frequencies between case and control group, no statistical significance was obtained for any of the groups analyzed. Related to risk factors and scales of neurological impairment and functional dependence (Glasgow Coma scale, scale of Rankin, and Barthel Index) no statistically significant results were observed.

**Conclusion:** The present study did not reveal polymorphism +936C/T as a risk factor for AVEH/Aneurysm.

**Key words:** Stroke, Aneurysm, VEGF +936C/T, Polymorphism.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AVE – Acidente Vascular Encefálico  
AVEH – Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico  
AVEI – Acidente Vascular Encefálico Isquêmico  
DCV – Doenças Cardiovasculares  
DNA – Ácido desoxirribonucleico  
DNTP – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados  
ECG – Escala de Coma de Glasgow  
EmR – Escala Modificada de Rankin  
FA – Fibrilação Atrial  
g – Grama  
HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica  
HSA – Hemorragia Subaracnóidea  
mg – Miligrama  
MgCl<sub>2</sub> – Magnésio  
mL – Mililitro  
mM – Milimolar  
ng – Nanograma  
nM – Nanomolar  
pb – Par de bases  
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase  
PGF – Fator de Crescimento Placentário  
pmol – Picomol  
RFLP – Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição  
SNC – Sistema Nervoso Central  
SNPs – Polimorfismos de Nucleotídeo único  
Taq – *Thermus aquaticus* DNA polimerase  
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
UV – Ultravioleta  
V – Volts  
VEGF – Fator de Crescimento Vascular Endotelial  
VEGFR – Receptores do Fator de Crescimento Vascular Endotelial  
VPF – Fator de Permeabilidade Vascular

VPF – Fator de Permeabilidade Vascular

$\mu\text{L}$  – Microlitro

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Aneurisma Intracerebral e Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico .....	2
1.2 Fatores de risco .....	7
1.3 Classificação dos pacientes.....	9
1.4 Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) .....	12
1.5 Polimorfismos do VEGF.....	14
2. JUSTIFICATIVA .....	16
3. OBJETIVOS .....	17
3.1 Objetivo geral.....	17
3.2 Objetivos específicos .....	17
4. METODOLOGIA .....	18
4.1 Delineamento.....	18
4.2 Campo de Estudo .....	18
4.3 Amostra .....	18
4.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	19
4.5 Termo de Guarda de Material Biológico .....	20
4.6 Procedimentos Técnicos e Laboratoriais .....	20
4.6.1 Extração de DNA.....	20
4.6.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	20
4.6.3 RFLP- Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição).....	22
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	24
5.1 Estimativa das frequências genótípicas e de dados dos participantes da pesquisa. ....	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
6.1 Caracterização dos grupos de estudo .....	25
6.2 Resultados da avaliação do polimorfismo genético VEGF +936C/T.....	27
7. CONCLUSÕES .....	35
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
9. ANEXOS .....	43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Conclusões físicas em pacientes com hemorragia subaracnóide.....	7
<b>Tabela 2.</b> Fatores de risco estabelecidos para AVE. ....	8
<b>Tabela 3.</b> Escala de Rankin (avaliação funcional). ....	11
<b>Tabela 4.</b> Iniciadores para detecção do polimorfismo +936C/T do gene VEGF. ....	21
<b>Tabela 5.</b> Protocolo da reação de PCR. ....	21
<b>Tabela 6.</b> Condições de amplificação do VEGF +936C/T.....	22
<b>Tabela 7.</b> Protocolo da reação de digestão.....	23
<b>Tabela 8.</b> Associação entre sexo e grupos caso e controle. ....	25
<b>Tabela 9.</b> Associação entre idade e grupos caso e controle.....	27
<b>Tabela 10.</b> Distribuição genotípica do polimorfismo VEGF +936C/T nos grupos caso e controle.....	28
<b>Tabela 11.</b> Características clínicas associadas à ocorrência de AVEH/aneurisma e escalas de consciência relacionadas ao polimorfismo por genótipo C/C, C/T + T/T do polimorfismo VEGF +936 C/T em pacientes do grupo caso.....	30
<b>Tabela 12.</b> Características clínicas associadas à ocorrência de AVEH/aneurisma relacionadas ao polimorfismo por genótipo C/C, C/T + T/T do polimorfismo VEGF +936 CT em pacientes do grupo controle. ....	33

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Tipos de aneurismas quanto à forma .....	3
<b>Figura 2:</b> Aneurisma intracerebral e acidente vascular encefálico hemorrágico.....	4
<b>Figura 3:</b> Hemorragia sub-hialóide .....	6
<b>Figura 4:</b> Visualização das amplificações do polimorfismo VEGF +936 C/T em gel de agarose para teste de temperatura utilizando três amostras distintas de pacientes acometidos por Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico (59 °C, 60°C, 61 °C e 62°C).....	21
<b>Figura 5:</b> Digestão Enzimática do gene VEGF +936 CT gerando os genótipos C/T, C/C e T/T.....	23

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO A.</b> Aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa/SES-DF.....	43
<b>ANEXO B.</b> Ficha de identificação dos participantes da pesquisa.....	44
<b>ANEXO C.</b> Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de todos participantes da pesquisa.....	45
<b>ANEXO D.</b> Termo de guarda de material biológico de todos os participantes da pesquisa.....	49
<b>ANEXO E.</b> Escala de coma de Glasgow.....	52
<b>ANEXO F.</b> Escala de Barthel.....	53

## 1. INTRODUÇÃO

O estado de saúde das populações tem melhorado consideravelmente nos últimos 50 anos em razão das mudanças na sociedade. Entretanto, as doenças crônicas não transmissíveis vêm crescendo de modo considerável, representando, nos dias atuais, um dos problemas de saúde pública mais importantes (FERREIRA & FERREIRA, 2012). Em 2005, foi estimado que 58 milhões de pessoas morreram e cerca de 35 milhões dessas mortes (60%) foram ocasionadas por doenças crônicas (TRUELSEN et al., 2007).

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a principal causa de morte a nível mundial. No ano de 2012, foi aferido que 17,2 milhões de pessoas morreram por DCV, o que representa cerca de 31% do total de mortes globais. Desses óbitos, 6,7 milhões tiveram como causa o Acidente Vascular Encefálico (AVE).

Nas últimas décadas o AVE, vem se destacando por estar entre as principais causas de internações, causando na grande maioria dos acometidos algum tipo de deficiência, seja parcial ou completa (LIMA, 2016). A incapacidade funcional é um dos desfechos mais importantes após um AVE, pois interfere de forma significativa nas atividades diárias (MEDEIROS, 2014). Além disso, essa condição envolve a junção de diversos fatores, entre eles os ambientais, recursos econômicos e sociais, além de fatores emocionais e motivacionais (NUNES, PEREIRA & SILVA, 2005).

Estima-se que dois terços dos indivíduos afetados pelo AVE vivem em países de baixa renda ou renda média. Além da influência da renda, a urbanização, as alterações demográficas e a alta exposição a fatores de risco irão promover acidentes vasculares cerebrais até 2025 (TRUELSEN et al., 2007). O AVE também é apontado como a causa principal de morte tanto em homens quanto em mulheres nas cinco regiões do Brasil. As regiões Sudeste e Sul, que apresentam padrão de mortalidade semelhante aos países desenvolvidos, apresentaram maiores índices da doença quando comparada as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste; estas últimas três regiões possuem padrão comparável aos países em desenvolvimento (MANSUR & FAVARATO, 2016).

Considerado uma disfunção neurológica aguda, o AVE tem origem vascular, e ocorre devido a interrupção ou diminuição do fluxo sanguíneo de áreas focais do encéfalo (MEDEIROS, 2014). Essa patologia pode ser ocasionada de duas formas: a trombótica (também chamada de isquêmica) ou hemorrágica (provocada pelo rompimento de um vaso do encéfalo levando ao extravasamento de sangue no parênquima cerebral). Ambos os tipos ocasionam disfunção cerebral, porém com mecanismos de lesão diferentes. No AVE hemorrágico a lesão cerebral é originada do contato direto das estruturas sanguíneas com as células encefálicas, enquanto no isquêmico, que representa a grande maioria dos casos (87%), ocorre a diminuição da perfusão de sangue ao encéfalo (LIMA, 2016; MAGISTRIS et al. 2013).

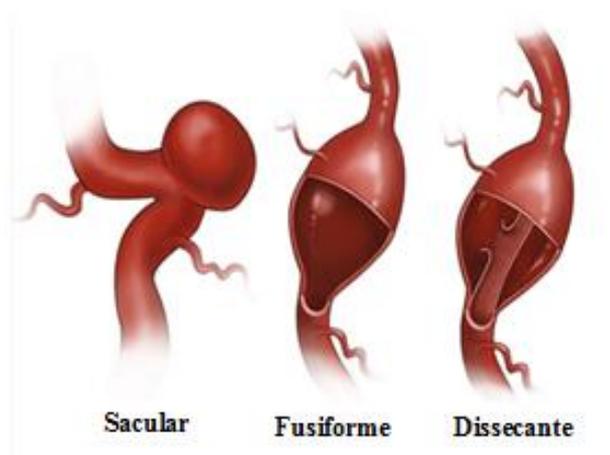
Outra doença que pode atingir o tecido cerebral é o Aneurisma Intracerebral . Essa doença é caracterizada por uma dilatação anormal de uma artéria que irriga o cérebro localizado geralmente em pontos onde há bifurcação, tidos como mais frágeis. Pode se romper, causando uma hemorragia cerebral (AVE hemorrágico) ou permanecer estável durante toda vida sem se romper (REDE BRASIL AVC, 2010).

### **1.1 Aneurisma Intracerebral e Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico**

O aneurisma intracerebral pode ser definido como uma dilatação anormal de uma artéria que faz a irrigação cerebral e localiza-se geralmente onde se dá a bifurcação, que são consideradas regiões mais frágeis (REDE BRASIL AVC, 2010). A ruptura da parede fragilizada pode levar a Hemorragia Subaracnóide (HSA) espontânea, um tipo de AVE, considerada um evento clínico grave que é caracterizado pela ruptura e sangramento inesperado (TURCATO et al., 2006).

Dentre as origens de HSA, a forma traumática é a mais comum. Os aneurismas correspondem de 70 a 80% das hemorragias em sua forma espontânea, já as malformações arteriovenosas correspondem de 4 a 5% desses eventos. Vasculites que envolvem o Sistema Nervoso Central (SNC), tumores, distúrbios de coagulação, tumores e a doença falciforme são consideradas causas menos frequentes (TURCATO et al., 2006). Os aneurismas podem ocorrer em qualquer artéria do corpo tais como as de coração, rim e abdômen, porém os do tipo cerebral e da aorta torácica acusam altas taxas de mortalidade (REDE BRASIL AVC, 2010).

Os aneurismas intracerebrais podem ser classificados de acordo com sua forma, tamanho e local. No que diz respeito à forma pode classificar-se como saculares, fusiformes e dissecantes, sendo em sua maioria (90%) representado pelas dilatações saculares que tem formato arredondado ou lobulado originando-se das bifurcações arteriais (BONNEVILLE, SOUROUR & BIONDI, 2006) (Figura 1).



**Figura 1:** Tipos de aneurismas quanto à forma

Fonte: <http://www.rwjuh.edu/brain-aneurysm/brain-aneurysm-overview.aspx> (Adaptado).

Com relação ao tamanho, representando a maioria, os aneurismas saculares são considerados como: a) pequeno, quando o diâmetro da estrutura é menor que 10 mm; b) grande, quando o diâmetro varia entre 10 e 25 mm e c) gigantes, para aneurismas maiores que 25 mm, sendo esse representante de cerca de 5% de todos os aneurismas, apresentando manifestações clínicas específicas, pois além de ser responsável pela HSA espontânea, a maioria dos pacientes acometidos pelos aneurismas gigantes retrata déficit neurológico progressivo e outra minoria apresenta déficit neurológico agudo, que tem como causa eventos tromboembólicos secundários (BONNEVILLE, SOUROUR & BIONDI, 2006).

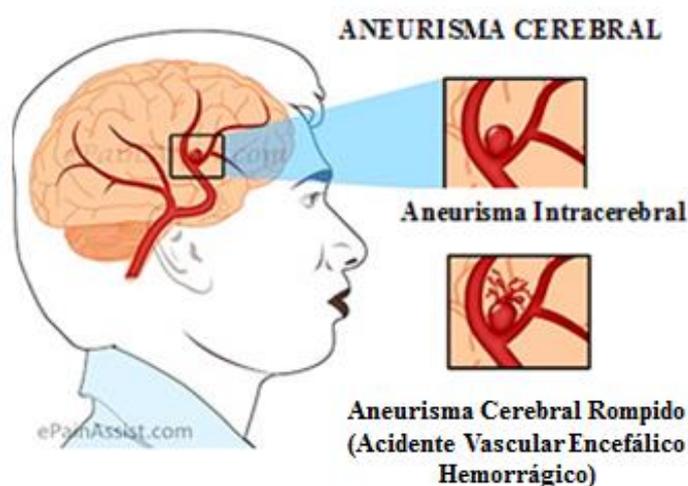
É fundamental a determinação do aneurisma intracerebral em intradural ou extradural, esses dois tipos de aneurismas comportam diferentes considerações clínicas e terapêuticas, o aneurisma extradural, por exemplo, praticamente não leva a HSA espontânea. Cerca de 90% dos aneurismas intradurais saculares estão situados no círculo de Willis, local onde se encontram as principais artérias para vascularização cerebral e tem como função a manutenção do fluxo sanguíneo em

caso de obstrução. Além disso, também possuem uma elevada tendência de ser grande ou gigante sendo causa de dor orbitária, perda visual ou dor de cabeça em 60 a 70% dos casos (BONNEVILLE, SOUROUR & BIONDI, 2006; PEIXOTO et al., 2015, TURCATO et al., 2006).

Em relação à etiologia os aneurismas podem ser congênitos, ateroscleróticos ou hipertensivos, embólicos, infecciosos, traumáticos e em associação as outras condições clínicas. Defeitos congênitos no músculo e tecidos da camada média arterial são observados em 80% dos vasos normais dessa estrutura que se deterioram conforme a exposição a estresses hemodinâmicos do fluxo sanguíneo pulsátil (TURCATO et al., 2006).

Os aneurismas intracerebrais tornam-se sintomáticos quando ocorre sua ruptura, designado de aneurisma intracerebral roto (rompido). Esse evento ocorre principalmente em mulheres e o risco aumenta com a idade. O histórico familiar também é relevante, pois aneurismas cerebrais rompidos podem predispor as chances (REDE BRASIL AVC, 2010).

A maioria dos aneurismas intracerebrais não se rompe e mantém-se sem diagnóstico durante toda a vida. Entretanto, 27 mil novos casos de HSA provocados por rompimento ocorrem nos Estados Unidos anualmente, isso representa de 5 a 15% dos casos de acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) (Figura 2) (MAGISTRIS et al., 2013).



**Figura 2:** Aneurisma intracerebral e acidente vascular encefálico hemorrágico.

O acidente vascular encefálico é considerado atualmente uma das principais causas de morte e deficiência nos países industrializados e apesar das intervenções da medicina ainda reduzirem o risco de morte, a elevada carga de cuidados de saúde, que resulta de suas incapacitantes consequências, aumenta de acordo com o envelhecimento da população (ROBINSON et al. 2009).

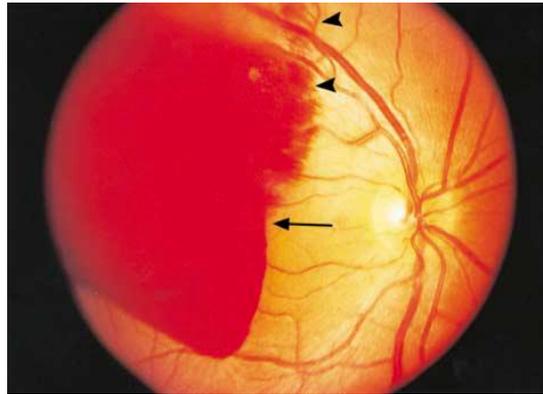
O AVEH corresponde cerca de apenas 10 a 15% de todos os acidentes vasculares cerebrais, e são considerados mais debilitantes que o acidente vascular encefálico isquêmico (AVEI), tendo como desfecho a morte em apenas 30 dias, representando 34% dos casos (ROBINSON et al. 2009).

Um dos principais fatores de risco para o AVEH é a hipertensão, representando até 60% de todos os casos desse evento. Todavia, outros fatores como terapia anticoagulante, o elevado consumo de álcool, histórico de AVE e o uso de drogas ilícitas também tem relevância. Outros fatores, considerados não modificáveis como a idade avançada, alterações cerebrais hereditárias e coagulopatias devem ser consideradas (MAGISTRIS et al., 2013).

Pode-se dividir o AVEH em três diferentes fases: 1) hemorragia inicial, 2) expansão o hematoma e 3) edema peri-hematoma. A hemorragia inicial tem como causa o rompimento das artérias cerebrais que é influenciada pelos fatores de risco anteriormente apontados. O seguimento da doença depende principalmente das duas últimas fases, pois ocorrendo o aumento da pressão intracraniana, pode ser interrompida a integridade do tecido local e da barreira hematoencefálica como consequência da expansão do hematoma. O tamanho inicial da hemorragia e a taxa de expansão do hematoma devem ser levados em consideração, pois são prognósticos importantes, preditores de deterioração neurológica (MAGISTRIS et al., 2013).

O hematoma formado é capaz de induzir alterações patológicas nas regiões ao seu entorno, incluindo edema, apoptose, necrose além da presença de células inflamatórias (QURESHI; MENDELOW; HANLEY, 2009). A necrose caracteriza-se pela lise e inchaço celular, esse mecanismo acarreta a morte de grupos de células além de uma resposta inflamatória significativa. Em contrapartida, a apoptose envolve o encolhimento de células e a formação do corpo apoptótico. Além disso, estudos sugerem que a morte celular na fase correspondente ao peri-hematoma pode envolver esse mecanismo (QURESHI et al., 2003).

O sintoma típico de HSA é o início súbito de dor de cabeça severa, definida como “a pior dor de cabeça da sua vida”, que se evidencia durante o esforço. O exame físico pode revelar hemorragias na retina (Figura 3), inquietação, rigidez nuchal, diminuição do nível de consciência além de sinais neurológicos focais (EDLOW & CAPLAN, 2000) (Tabela 1).



**Figura 3:** Hemorragia sub-hialóide

Retina do olho direito de um paciente com hemorragia subaracnóidea aneurismática apresentando pequenas hemorragias em forma de chama (setas) e uma grande hemorragia sub-hialóide (seta). Esse cenário é analisado como resultante de um aumento agudo na pressão intracraniana, que leva a obstrução da saída venosa ocular.

Fonte: EDLOW & CAPLAN, 2000.

Pacientes que apresentam esses sintomas, considerados “achados clássicos” apresentam pouca dificuldade de diagnóstico, porém, com a ausência destes, a identificação é incorreta, o que pode gerar a piora, que geralmente é consequência do sangramento recorrente (EDLOW & CAPLAN, 2000).

**Tabela 1.** Conclusões físicas em pacientes com hemorragia subaracnóide.

<b>Achados</b>	<b>Provável localização do Aneurisma</b>
Rigidez Nucal	“Qualquer”
Diminuição do nível de consciência	“Qualquer” (pode resultar de possíveis complicações da ruptura aneurismática: Hidrocefalia, hematoma ou isquemia).
Papiledema	“Qualquer”
Hemorragia retiniana e sub-hialóide	“Qualquer”
Paralisia do terceiro nervo	Artéria comunicante posterior
Paralisia do sexto nervo	Fossa posterior
Fraqueza bilateral nas pernas ou abulia	Artéria comunicante posterior
Nistagmo ou ataxia	Fossa posterior
Afasia, hemiparesia ou negligência visual esquerda.	Artéria cerebral média

Fonte: Adaptado de EDLOW & CAPLAN, 2000.

## 1.2 Fatores de risco

Nos últimos anos, estudos que utilizam métodos mais aprimorados têm considerado os fatores de risco como modificáveis e não modificáveis para o AVE isquêmico e hemorrágico além dos que estão relacionados à base genética e são e reconhecidos a partir de estudos entre familiares (AZEVEDO, 2009). A identificação prévia de fatores de risco tem como objetivo a profilaxia de AVE na população. Além disso, a caracterização de determinantes de recorrência e mortalidade implica em estratégias secundárias de prevenção tendo em vista a ameaça que o AVE representa. A tabela 2 representa os fatores de risco para a AVE e sua recorrência (CHAVES, 2000).

**Tabela 2.** Fatores de risco estabelecidos para AVE.

<b>Riscos modificáveis</b>	<b>Riscos não modificáveis</b>	<b>Outros</b>
Hipertensão	Idade	Álcool
Diabetes	Sexo	Anticorpo fosfolipídeo
Fumo	Raça	Homocisteína elevada
Fibrilação atrial	Etnia	Processo inflamatório
Outras doenças cardíacas	Hereditariedade	Infecção
Hiperlipidemias		
Sedentarismo		
Estenose carotídea assintomática		
Ataques isquêmicos transitórios		

Fonte: Adaptado de CHAVES, 2000.

A Hipertensão Arterial é apontada como principal fator de risco para AVE pelo fato de estar associada à doença de pequenas e grandes artérias. Já a Diabetes mellitus é um importante fator por conta de mecanismos relacionados a alterações da hemodinâmica cerebral, à hiperglicemia e a sua interação com outros aspectos como a hipertensão e a hiperlipidemia (CHAVES, 2000).

Em diversos estudos o tabagismo é constantemente apontado. O risco de HSA aneurismática é de 3 a 10 vezes maior entre fumantes quando comparado a não fumantes. É relatado ainda, que o risco aumenta de acordo com o número de cigarros fumados, e pacientes que continuam com o hábito após a HSA correm o risco de desenvolver um novo aneurisma (TURCATO et al., 2006).

A fibrilação atrial (FA) tem grande prevalência e alta morbidade e mortalidade na população, essa condição aumenta o risco de AVE de 4 a 5 vezes. Cardiopatias, principalmente isquêmica e hipertensão, são correlacionadas com maior risco de FA, condição essa, que aumenta a mortalidade em quase duas vezes em ambos os sexos (CHAVES, 2000).

Em relação aos fatores não modificáveis, mais especificamente etnia, notou-se a maior incidência de mortalidade por AVE em negros, tanto nos Estados Unidos como na Inglaterra. Isso pode ser explicado pela maior prevalência de hipertensão

hipertrofia ventricular esquerda, obesidade, consumo de álcool e fumo em negros hispânicos comparados aos brancos, pelo menos nos Estados Unidos. Deve-se ressaltar o menor grau de controle dessas condições nestes grupos étnicos, apesar desta ser uma circunstância observada em todos os grupos socioeconômicos (CHAVES, 2000).

As mulheres demonstram um risco mais elevado de desenvolver AVE (20%) em comparação aos homens (17%). Parte desse impacto é explicado pela maior expectativa de vida além de fatores como diferenças na imunidade, coagulação, fatores hormonais e reprodutivos. (BUSHNELL, 2014).

No que se refere à homocisteína (um aminoácido com estrita relação com doenças cardiovasculares) estudos mostram que níveis totais elevados de homocisteína parecem apresentar risco independente para o desenvolvimento de AVE. Esses níveis se evidenciam com a idade e prevalecem em populações bem nutridas, porém uma conclusão sólida sobre tal afirmação só poderia ser obtida através de ensaios randomizados (CHAVES, 2000).

### **1.3 Classificação dos pacientes**

O aneurisma intracerebral e o AVEH são causa de diversos problemas que levam a incapacidade, condições essas que acarretam para os sobreviventes um padrão de vida com limitações (BRITO et al., 2013). Nos últimos anos diversos instrumentos para a avaliação do nível de consciência vêm sendo utilizados na prática clínica no formato de escalas, esse recurso tem o objetivo de manter um padrão de avaliação da evolução clínica de pacientes e também a melhora na comunicação entre os integrantes das equipes de saúde além da agilidade nos serviços de emergência, é recomendado que seja simples, objetivo, preciso e confiável. O mecanismo de escala também pode atuar como indicador de mortalidade, porém, é importante salientar que nenhuma escala deve substituir o exame clínico e neurológico detalhado e nem uma avaliação completa apesar de sua importância (OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014).

A escala de coma de Glasgow (ECG) é uma escala clínica destina-se a avaliação da profundidade e duração do comprometimento da consciência e o coma. Esses níveis são definidos através de avaliações comportamentais baseados em valores numéricos. Atualmente é o sistema de pontuação mais utilizado

internacionalmente para a avaliação de pacientes em cuidado intensivo. Com grande valor preditivo e sensibilidade, esse mecanismo foi criado com o objetivo de padronizar as observações clínicas de pacientes acometidos por traumatismos craniocerebrais além de permitir comparação de diferentes condutas e ser ferramenta para o estabelecimento de prognóstico (OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014).

A ECG avalia o paciente de acordo com sua reatividade com a observação de três parâmetros: abertura ocular, reação motora e resposta verbal. Cada componente dos três parâmetros varia de 3 a 15 representando um escore, sendo 15 o melhor e 3 o menor, que pode ser considerado morte cerebral mediante confirmação de outros parâmetros (OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014) (ANEXO E).

Outro mecanismo de avaliação é a escala modificada de Rankin (EmR) que mensura o grau de incapacidade e a dependência em atividades diárias de pacientes acometidos pelo AVE. Essa escala é dividida em seis graus no qual o grau 0 representa indivíduos que não possuem sintomas residuais ou incapacidade. O grau 5 trata-se de indivíduos com incapacidade grave restrito ao leito e por fim, o grau 6 que representa o óbito (BRITO et al., 2013) (tabela 3).

**Tabela 3.** Escala de Rankin (avaliação funcional).

Grau	Descrição
0	Sem sintomas
1	<b>Nenhuma incapacidade significativa</b> , a despeito dos sintomas; capaz de conduzir todos os deveres e atividades habituais.
2	<b>Leve incapacidade</b> ; incapaz de realizar todas as atividades prévias, porém é independente para os cuidados pessoais.
3	<b>Incapacidade moderada</b> ; requer alguma ajuda, mas é capaz de caminhar sem assistência (pode usar bengala ou andador).
4	<b>Incapacidade moderada severa</b> ; incapaz de caminhar sem assistência e incapaz de atender às próprias necessidades fisiológicas sem assistência.
5	<b>Deficiência grave</b> ; confinado à cama, incontinente, requerendo cuidados e atenção constante de enfermagem.
6	Óbito.

Fonte: Adaptado de Ministério da saúde, 2013.

O índice de Barthel relaciona-se a avaliação no que diz respeito às atividades diárias, mede a independência funcional no cuidado pessoal, mobilidade, locomoção e eliminações. A pontuação varia de 0 a 100 com intervalos de 5 pontos sendo que as maiores pontuações indicam máxima independência. Avalia-se a independência funcional em dez atividades básicas da vida: comer, higiene pessoal, uso de sanitários, tomar banho, vestir e despir, controle de esfínteres, deambular, transferência da cadeira para cama, subir e descer escadas. Esse parâmetro de avaliação é amplamente utilizado no ambiente hospitalar, centros de reabilitação e é considerado o instrumento mais adequado para avaliação de atividades diárias (MINOSSO et al., 2010; ARAÚJO ,2007) (ANEXO F).

As escalas de Glasgow, Rankin e índice de Barthel foram utilizados para a análise dos pacientes do estudo nas comparações com o polimorfismo +936C/T (rs3025039).

#### 1.4 Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)

O desenvolvimento do suprimento vascular é conhecidamente uma condição essencial para a estruturação e diferenciação de órgãos durante a embriogênese. Do mesmo modo, a cicatrização e funções reprodutivas no organismo adulto também necessitam da boa concepção dessa rede de vasos que atua como suporte de oxigênio e nutrientes. (FERRARA & DAVIS-SMYTH, 1997). Nesse mesmo contexto a angiogênese, como mecanismo fundamental, desempenha a expressiva função na formação de novos vasos sanguíneos, estes, que são desenvolvidos a partir de vasos pré-existentes (CROSS & WELSH, 2001).

De forma resumida, a angiogênese envolve os seguintes processos: inicialmente realiza-se a divisão celular e posterior degradação seletiva da membrana basal e do ambiente da matriz celular. Em seguida ocorre migração de células endoteliais. Por fim, ocorre formação de uma nova estrutura tubular (FREITAS et al., 2009). A angiogênese também está envolvida na patogênese de diversas doenças, entre elas pode-se citar: retinopatias proliferativas, degeneração macular relacionada com a idade, tumores, artrite reumatoide, psoríase e outros (FERRARA & DAVIS-SMYTH, 1997).

Pesquisas de potenciais reguladores da angiogênese acarretaram na descoberta de diversos fatores, dentre eles o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF, em inglês: *Vascular Endothelial Growth Factor*). Seu papel central foi elucidado com regulador chave na angiogênese, atuando na iniciação e na regulação de diversas respostas celulares, além de obter especificidade pelo endotélio vascular (FERRARA & DAVIS-SMYTH, 1997; FREITAS et al., 2009).

O VEGF desempenha importante papel como regulador na composição vascular fisiológica. Níveis diminuídos ou sua ausência são capazes de provocar danos tanto quanto seu aumento no que diz respeito à formação vascular sistêmica (FÁTIMA & PAPA, 2010). Identificado como uma citocina, o VEGF é expresso por variados tipos celulares tais como células do músculo liso aórtico, macrófagos e miócitos. Além disso, linfócitos, neutrófilos e plaquetas mostraram expressão do mesmo (HAMAMICHI et al., 2001). Neste ínterim, a autenticidade do VEGF já vem sendo descrita, e claramente demonstra sua capacidade de promover o crescimento de células endoteliais vasculares derivadas de artérias, veias e linfáticos (FERRARA et al., 2003).

Pertencente a uma família de polipeptídios, que inclui o fator de crescimento placentário (PGF, em inglês: *Placental Growth Factor*), o VEGF é caracterizado pela presença de oito resíduos de cisteína em um peptídeo monomérico. Em humanos foram identificados seis membros: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-F e PlGF. O VEGF- A, ou apenas VEGF, é o integrante mais ativo no desenvolvimento vascular de mamíferos e em doenças que envolvem anormalidade no crescimento de vasos sanguíneos (FREITAS et al., 2009; HOLMES & ZACHARY, 2005).

O VEGF apresenta estruturas de ativação denominadas de VEGFR1 E VEGFR2. São proteínas de membrana e que ao longo da estrutura proteica são divididas em quatro regiões: um domínio extracelular de ligação do ligante, domínio transmembranar que é seguido por uma região flexível justa-membrana ligada a um domínio tirosina quinase e por fim uma cadeia carbóxi-terminal. Os VEGFRs são atribuídos de relevante identidade entre si, e isso se dá principalmente nos domínios extracelular e quinase. Além disso, os VEGFRs estão intimamente associados com a família de receptores dos fatores de crescimento derivados de plaquetas (FREITAS et al., 2009).

Conhecido também como fator de permeabilidade vascular (VPF), resultado de sua eficiente capacidade de ampliar a capacidade dos vasos sanguíneos, o VEGF oportuniza o extravasamento de proteínas e outras moléculas para fora do ambiente vascular (HOLMES & ZACHARY, 2005). Dvorak (1987) sugeriu em seu estudo, que uma elevação da permeabilidade microvascular pode estar associado a tumores e feridas, uma vez que a fuga de proteína plasmática induzida pelo VEGF leva á formação de gel de fibrina, que por sua vez é empregada como substrato para o crescimento endotelial e de células tumorais.

Estudos mais recentes apontam também que o VEGF pode ser indutor de fenestrações em células epiteliais. Roberts e Palade (1995) elucidaram em seu estudo que a administração tópica de VEGF acarretou no desenvolvimento de fenestrações no endotélio de pequenas vênulas e capilares mesmo em regiões onde comumente as células endoteliais não são fenestradas. O fato foi então associado ao aumento da permeabilidade vascular.

## 1.5 Polimorfismos do VEGF

O genoma humano possui milhões de polimorfismos, esses, definidos como variantes genéticas no qual formas consideradas menores ocorrem pelo menos uma vez em cada cem formas. As anormalidades genéticas apresentam características benignas e interessantes tornando indivíduos diferentes entre si, no entanto, podem ter atuação na saúde, sendo utilizado como ferramenta de rastreamento de doenças (GOLDSTEIN & CAVALLERI, 2005).

O polimorfismo genético pode ser entendido como variações em sequências codificantes ou reguladoras em mais de 1% de indivíduos da espécie, e isso poderá ser traduzido em fenótipos diferentes. Os polimorfismos genéticos nomeados de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) representam cerca de 90% das variações encontradas no genoma humano, tais condições pode se apresentar tanto na região codificante quanto na região reguladora do gene. Esse processo pode ocasionar alterações nos aminoácidos da proteína codificada ou na taxa de produção desta (SALAZAR-PELAÉZ, 2012).

Já foram descritos diversos polimorfismos do gene VEGF, alguns associados com a expressão diferencial da proteína VEGF *in vitro* (BISELLI et al., 2008). Esse gene em humanos tem como característica a conservação da estrutura de 8 éxons, e 7 íntrons (HOLMES & ZACHARY, 2005). Existem diversas isoformas codificadas que são determinadas a partir da quantidade de éxons e outras consequentes propriedades e padrões. Atualmente, em humanos, oito isoformas do VEGF- A já foram descritas (VEGF121, VEGF145, VEGF 148, VEGF165, VEGF165b, VEGF183, VEGF189 e VEGF206) que são obtidas através de *splicing* alternativo de apenas um gene. As diferentes isoformas são nomeadas de acordo com a quantidade de aminoácidos que cada molécula de proteína que foi secretada detém, além disso, essa peculiaridade define atributos de cada molécula como a sua solubilidade e capacidade de ligação a heparina (FÁTIMA & PAPA, 2010).

O gene VEGF encontra-se localizado no cromossomo 6 (6p21.3) (VINCENTI et al., 1996), e é considerado um gene com elevada capacidade polimórfica. Além disso, a expressão desregulada desse gene pode ter implicação em diversas patologias (BURACZYNSKA et al., 2007). Diversos estudos imuno-histoquímicos mostraram o envolvimento do VEGF em alterações conformacionais na vascularização cerebral (SANDALCIOGLU et al., 2006). Skirgaudas et al. (1996)

estudou a expressão e distribuição da imunorreatividade aos fatores de crescimento da angiogênese na parede vascular de aneurismas intracranianos de reações imuno-histoquímicas de anticorpos. Foi observado como resultado a significativa expressão do VEGF na parede de todos os aneurismas.

São diversos os polimorfismos do gene VEGF e como consequência seus níveis de expressão podem ser alterados. Dentre eles pode-se destacar o +936C/T, localizado na região não traduzida do VEGF, que é uma mutação comum no qual a troca C/T pode estar relacionada de forma determinante com níveis plasmáticos desse gene. Portadores de apenas um alelo, +936T, menos comum, demonstram níveis reduzidos de VEGF (RENNER et al., 2000). Diversos estudos investigam o polimorfismo VEGF +936C/T relacionando-o como fator de susceptibilidade a diversas doenças, como por exemplo: cancro da mama, sarcoidose, parto prematuro espontâneo e vasculite. (WOLF et al., 2004; SONG, KIM & LEE, 2014).

Apesar de amplamente polimórfico e considerado fator importante da angiogênese tanto fisiológica quanto patológica (FONTANELLA et al., 2013), não existem estudos que relacionem o envolvimento do polimorfismo VEGF +936C/T com a predisposição ao acometimento de aneurisma intracerebral e acidente vascular encefálico hemorrágico.

## 2. JUSTIFICATIVA

Notadamente, o Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico e Aneurisma Cerebral estão entre as principais causas de incapacitação funcional e morte atualmente. Isso se deve a diversos fatores, entre eles, ambientais e genéticos. Portanto, torna-se importante o estudo do gene VEGF, e de forma mais específica o polimorfismo +936C/T, a fim de buscar relação entre a alteração genética e as condições fisiopatológicas geradas.

Considerando-se a importância desse gene para a manutenção da integridade vascular e as diversas consequências aos seus portadores esse estudo tem o intuito de colaborar e elucidar sobre a influência de fatores genéticos sobre o AVEH e aneurisma intracerebral, tais esclarecimentos podem atuar como coadjuvantes no prognóstico dessas doenças e conseqüentemente na qualidade de vida dos indivíduos afetados.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo geral deste estudo é avaliar a relação entre o polimorfismo +936C/T localizado na região 3'UTR do gene do VEGF e o desenvolvimento de Aneurisma intracerebral e AVEH em pacientes atendidos no setor de Neurocirurgia do Hospital de Base de Brasília.

#### **3.2 Objetivos específicos**

3.2.1 Determinar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo VEGF +936C/T em indivíduos afetados pelo acidente vascular encefálico hemorrágico e aneurisma intracerebral atendidos em um hospital localizado no Distrito Federal.

3.2.2 Comparar as frequências alélicas e genotípicas previamente identificadas com aquelas apresentadas em indivíduos não portadores de doenças crônicas que habitam na mesma região, promovendo assim, um estudo do tipo caso-controle.

3.2.3 Identificar a frequência do polimorfismo VEGF +936C/T de acordo com as avaliações de déficit neurológico e funcional dos pacientes por meio de escalas avaliativas (Escala de Glasgow, Escala de Rankin, e índice de Barthel).

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Delineamento**

Trata-se de um estudo observacional, descritivo do tipo caso-controle em pacientes com diagnóstico de AVEH e/ou aneurisma intracerebral e indivíduos sem registro do desfecho residentes no Distrito Federal (Brasil).

### **4.2 Campo de Estudo**

Após a aprovação do projeto (ANEXO A), dados pessoais dos participantes da pesquisa foram obtidos por meio do preenchimento de uma ficha de identificação específica (ANEXO B). A ficha de identificação possibilitou a identificação dos pacientes segundo a idade, sexo, cor, estado civil, data do AVEH/aneurisma, HAS, Pressão arterial, diabetes, glicemia, tabagismo, etilismo, uréia, creatinina, pontuação na escala de coma de Glasgow, Rankin e Índice de Barthel na admissão e exames de imagem.

O único procedimento a que os participantes foram submetidos foi a coleta de aproximadamente 10 mL de sangue venoso através de punção de veia periférica, com material novo e descartável.

O material biológico (sangue) dos participantes foi levado ao Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Bioprospecção e Neurociências (Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília) para realização da extração do DNA das amostras e os exames para verificação dos polimorfismos genéticos. Esse material biológico foi fracionado, e armazenado no Laboratório de Pesquisa em Genética Molecular e no Laboratório de Análises Clínicas da FCE.

### **4.3 Amostra**

Os participantes da pesquisa foram divididos em 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 e/ou aneurisma intracerebral, admitidos no período de 1 de janeiro de 2011 a 31 de dezembro de 2012, com

diagnóstico de AVEH e ou aneurisma intracerebral comprovado por meio de tomografia computadorizada.

Os critérios de exclusão foram menores de 18 anos, indivíduos que não apresentaram diagnóstico de AVEH e/ou aneurisma intracerebral e indivíduos que não desejaram participar da pesquisa ou representantes legais que não consentiram em participar.

A autorização ética para pesquisa foi para no máximo 200 participantes do grupo caso.

O grupo controle teve como critérios de inclusão indivíduos de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, sem AVEH e aneurisma intracerebral e não aparentados dos pacientes do grupo caso. Também foi considerado como critério de inclusão aqueles indivíduos que realizaram exames bioquímicos de sangue (glicemia sérica) há menos de 15 dias e possuíam o registro formal deste resultado. Os critérios de exclusão foram indivíduos menores de 18 anos, parentes de indivíduos com AVEH e/ou aneurisma intracerebral e indivíduos que não desejaram participar da pesquisa.

A autorização ética para pesquisa foi para no máximo 200 participantes do grupo controle, sendo que este grupo foi pareado por sexo e idade em relação ao grupo caso.

#### **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 que tinham condições de compreender e assinar o TCLE. Aos pacientes que não apresentaram condições clínicas de compreender e assinar o TCLE 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 fizeram 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**

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

Aos participantes da 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**

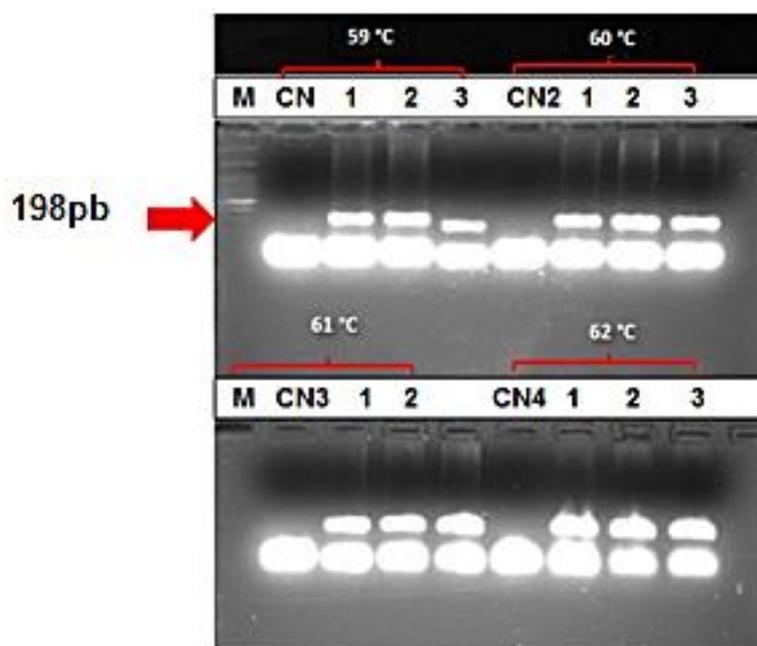
##### **4.6.1 Extração de DNA**

O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do kit *Invisorb Spin Blood Mini Kit (250)* da empresa Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300, Alemanha). A concentração do DNA obtido foi estimada pelo espectrofotômetro (NANODROP Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). A concentração média alcançada foi de 20 ng/ $\mu$ L.

##### **4.6.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

A reação para amplificação do gene VEGF +936C/T foi realizada pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, em inglês: *Polymerase Chain Reaction*), que permite que uma região selecionada do genoma seja amplificada milhões de vezes. O protocolo de trabalho foi desenvolvido de acordo com Biselli et al. (2008) e Wolf et al. (2004), que em seus estudos relatam a reação utilizando o mesmo polimorfismo. Primeiramente foi realizado teste para definir a melhor temperatura de anelamento de *primers* (tabela 4) e definição das condições de amplificação do fragmento de 198 pb (pares de base) (figura 4). O volume final de cada amostra para amplificação do DNA genômico foi de 20  $\mu$ L seguindo o protocolo descrito na tabela 5. Logo após o preparo, as reações foram submetidas à termociclagem, seguindo as condições descritas na tabela a seguir (tabela 6). Após a etapa de padronização, foi escolhida a temperatura de 61°C para a continuidade do trabalho. Todas as PCRs foram realizadas utilizando o termociclador Bioer life express ®.

Após a PCR as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 2% (preparado com 1,2 g de agarose + 60 mL de TBE 1x). Adicionou-se tampão de corrida de amostra azul de bromofenol (5 µL) e Gel Red™ (1 µL) e uma alíquota de amostra (5 µL) em cada poço do gel para a corrida. As condições de corrida utilizadas foram: voltagem de 80 V por 45 minutos. Posteriormente a visualização dos resultados foi realizada através de fotodocumentador sob luz UV.



**Figura 4:** Visualização das ampliações do polimorfismo VEGF +936 C/T em gel de agarose para teste de temperatura utilizando três amostras distintas de pacientes acometidos por Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico (59 °C, 60°C, 61 °C e 62°C).

(M) marcador de pares de base \*. (CN) Controle negativo

\*O marcador de peso molecular utilizado foi o de 100pb (®AVATI, Curitiba, Brasil).

Fonte: Elaborada pela autora

**Tabela 4.** Iniciadores para detecção do polimorfismo +936C/T do gene VEGF.

Iniciadores	Sequências (5'- 3')
*VEGF +936 forward (F)	AAGGAAGAGGAGACTCTGCGC
*VEGF +936 reverse (R)	TATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG

\*Exxtend, São Paulo, Brasil.

**Tabela 5.** Protocolo da reação de PCR.

Reagente	Concentração do uso	Concentração para cada reação	μL para cada reação
*Tampão	10x	1x	2 μL
*MgCl <sub>2</sub>	50mM	50mM	0,6 μL
DNTP	25 nM	2,5 nM	1,6 μL
Primer VEGF (F)	5 pmol/μL	5 μM	0,5 μL
Primer VEGF (R)	5 pmol/μL	5 μM	0,5 μL
*Taq- Polimerase	5U/μL	5 U/ μL	0,2 μL
DNA	2,5 ng/ μL	2,5 ng μL	4 μL
Água MilliQ-Q	-	-	10,6 μL
Volume total	-	-	20 μL

\* Ludwig Biotecnologia LTDA, Porto Alegre, Brasil.

**Tabela 6.** Condições de amplificação do VEGF +936C/T.

Temperatura (°C)	Tempo (min)	Ciclos
95	5	1x
95	1	
61	1	35x
72	1	
72	10	1x
4	∞	

#### 4.6.3 RFLP- Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição)

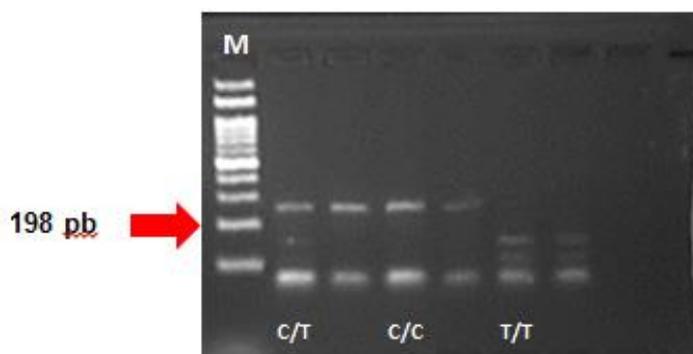
Posterior à confirmação da amplificação, utilizando-se o produto da PCR foi realizada a digestão com enzima de restrição Anza™ 56 Hin1II, que digere completamente o DNA no local de reconhecimento CATG ^, o protocolo da reação (volume final de 10 μL) descrito na tabela 7.

**Tabela 7.** Protocolo da reação de digestão.

Reagente	µL para cada reação
*Anza™ restriction enzyme Hin 1II	0,25 µL
*Anza™ 10x Red Buffer	1 µL
Água Milli-Q	7,25 µL
DNA	1,5 µL

\*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA.

Após a montagem do sistema de digestão as amostras eram levadas ao banho maria a 37 °C por 1h. Passado o procedimento adicionou-se Gel Red™ (1 µL) em cada amostra no qual foram reveladas por eletroforese em gel de agarose 2,5 % (preparado com 1,5 g de agarose + 60 mL de TBE 1x) sob voltagem de 80 V por 45 minutos. Posteriormente a análise foi realizada através de fotodocumentador sob luz UV para observação do padrão de bandas (figura 5).



**Figura 5:** Digestão Enzimática do gene VEGF +936C/T gerando os genótipos C/T, C/C e T/T.

(M) Marcador de pares de base\*

\*O marcador de peso molecular utilizado foi o de 100pb (©AVATI, Curitiba, Brasil).

Fonte: Elaborada pela autora

## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 5.1 Estimativa das frequências genóticas e de dados dos participantes da pesquisa.

As frequências genóticas e alélicas foram estimadas por contagem direta, por meio do programa SPSS versão 23.0. Para comparação das distribuições das frequências foi aplicado o teste do qui-quadrado e teste U de Mann-Whitney de forma a detectar possíveis associações dos genótipos entre os dois grupos avaliados (caso e controle). Foram consideradas associações com probabilidades menores que 5% ( $P < 0,05$ ).

Também foram estimadas as frequências de características dos participantes da pesquisa, a saber: idade, sexo, tabagismo, etilismo, presença de hipertensão arterial (HAS), e diabetes. .

Além disto, características clínicas do grupo caso foram descritas estatisticamente, tais como: as escalas de Glasgow, Rankin e Índice de Barthel.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Caracterização dos grupos de estudo

Durante o período de estudo foram identificados 91 indivíduos portadores de AVEH e/ou aneurisma e 57 indivíduos pertencentes ao grupo controle. A partir da seleção dos grupos amostrais foi possível realizar a avaliação quanto ao sexo e idade dos grupos de estudo permitindo assim obter a homogeneidade representada (tabelas 8 e 9). A tabela 8 representa a associação do sexo em relação ao AVEH/aneurisma. Observa-se que no grupo AVEH/aneurisma 60,4% dos participantes eram do sexo feminino enquanto que no grupo controle essa variável representou 45,6%. Já no que diz respeito ao sexo masculino o grupo controle revelou maior porcentagem do que no grupo caso, porém não houve significância estatística ( $P=0,056$ ) entre os estudos, demonstrando que o gênero dos pacientes não é um fator que influencia no estudo.

**Tabela 8.** Associação entre sexo e grupos caso e controle.

		Grupos				P #
		AVEH/Aneurisma		Controle		
		N	%	N	%	
Sexo	Feminino	55	60,4	26	45,6	0,056
	Masculino	36	39,6	31	54,4	
	Total	91	100,0	57	100,0	

# Teste do qui-quadrado; (N) número amostral (P) probabilidade.

Considerada a quarta causa principal de morte nos Estados Unidos e o distúrbio neurológico mais comum, o Acidente Vascular Encefálico (AVE) gera cerca de 150.000 mortes a cada ano. A incidência dos casos dessa morbidade aumenta de acordo com a idade (atingindo pessoas acima dos 65 anos) (GREENBERG et al., 2014). O presente estudo demonstrou em seus resultados um maior número de mulheres atingidas no grupo caso (AVEH/Aneurisma) (60,4%, n= 55).

O AVE é a quinta causa de morte em homens e em mulheres é considerada a terceira principal causa. As mulheres são mais adversamente afetadas pelo AVE por

conta da maior população e longevidade desse grupo, e também pelo pior prognóstico que é apresentado. Outros fatores como diferenças na imunidade, coagulação, fatores hormonais e reprodutivos (gravidez e parto), fatores sociais podem também ser encarados como risco e também serem impactantes quando se trata de acidentes vasculares encefálicos (BUSHNELL, 2014).

A maioria dos estudos mostra que as mulheres têm taxas de Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico (AVEH) maior que os homens, porém essa diferença pode ser modificada de acordo com a idade, sendo que o quadro se inverte quando se trata pessoas mais jovens sendo, nessas condições, os homens os mais atingidos pelo AVEH. Dados de outros países, que não EUA, mostram diferentes padrões sexuais no que diz respeito ao AVEH. Na Finlândia, por exemplo, os homens não os mais atingidos (BUSHNELL, 2014).

Mansur e Favarato (2016), em estudo retrospectivo que teve como base dados do Portal do Ministério da Saúde (DATASUS) analisou a mortalidade por doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. Notou-se que a mortalidade por doenças cardiovasculares aumentou na Região Nordeste no período de 1980 a 2012 em 27% da população, sendo que destes, 33% eram homens e 18% mulheres. No que diz respeito aos Aneurismas Cerebrais, estudos documentaram uma maior prevalência desse acometimento em mulheres bem como o maior risco de ruptura. Além disso, a localização desses Aneurismas também difere com relação ao sexo, o que pode representar maior risco de AVEH entre os diferentes grupos (BUSHNELL, 2014).

No estudo de coorte de Framingham, pacientes foram acompanhados por até 51 anos para avaliar o risco de apresentar o primeiro AVE, durante o período de avaliação, 86% dos participantes que desenvolveram AVE eram mulheres. Ao longo de um período de 29 anos a maior porcentagem de participantes, também do sexo feminino, apresentaram prognóstico de demência e Alzheimer. Isso demonstra o maior risco vital que as mulheres representam em relação aos homens (SESHADRI, 2006).

Observamos também a diferença de idade nos grupos caso e controle estudados (tabela 9). Para essa comparação foi utilizado o teste U de Mann-Whitney que testa a igualdade das medianas. Nota-se que tanto no grupo AVEH/aneurisma quanto no grupo controle as medianas apresentaram o mesmo

valor. Não houve diferença estatística entre os grupos ( $P=0,252$ ), demonstrando que esta variável não afeta os resultados de comparação entre os grupos.

**Tabela 9.** Associação entre idade e grupos caso e controle.

	Grupos						P <sup>#</sup>
	AVEH/Aneurisma			Controle			
	P25	Mediana	P75	P25	Mediana	P75	
Idade	51	52	60	49	52	57	0,252

<sup>#</sup> Teste U de Mann-Whitney. (P) probabilidade; (P25) Percentil 25; (P75) Percentil 75.

Apesar de não ter sido obtida relevância estatística entre as idades dos participantes do presente estudo foi observada, a mediana de idade de 52 anos tanto para o grupo caso quanto para o controle. A idade média de ocorrência de hemorragia subaracnóide varia entre 50 e 52,6 anos e pacientes com mais de 70 anos geralmente apresentam quadro mais grave (TURCATO et al., 2006).

No Brasil, a incidência de AVE dobra a cada década após os 55 anos evidenciando a importância da patologia na população idosa. Tal quadro pode ser atribuído ao envelhecimento populacional brasileiro, que vem acontecendo em considerável progressão. Esse fato que se deve essencialmente ao aumento da expectativa de vida, resultado de investimentos em serviços de saúde de alta complexidade e até as ações primárias de saúde (PEREIRA, 2009).

Um estudo realizado no Distrito Federal que avaliou aspectos topográficos, epidemiológicos e situação clínica de pacientes de um hospital local revelou uma faixa etária de 20 a 92 anos de idade em 148 pacientes, sendo maior número do sexo masculino (SILVA et al., 2013). Tais dados são compatíveis com os do presente estudo.

## 6.2 Resultados da avaliação do polimorfismo genético VEGF +936 C/T

Alvo principal do estudo foram observadas as distribuições alélicas e genotípicas do gene VEGF quando associadas aos grupos caso e controle (tabela 10). A proporção do genótipo homozigoto (C/C) prevaleceu no grupo controle; no que se refere ao genótipo C/T, o grupo caso apresentou maior porcentagem (24,2

%, n= 22). O genótipo homozigoto (T/T) representou maior porcentagem no grupo controle (3,5 %, n= 2). Porém, não foi observada diferença estatística significativa (P=0,113). É possível julgar que a presença desses genótipos em indivíduos acometidos por AVEH/Aneurisma não pode ser considerado fator de risco. Na mesma tabela também é representada a diferença percentual entre os genótipos no que diz respeito à presença do alelo T tanto homozigoto quanto heterozigoto.

Em relação à presença do alelo T, o grupo AVEH/Aneurisma apresentou maior porcentagem (26,4%, n=24) para o genótipo heterozigoto (C/T) e para o homozigoto (T/T) quando somados. Novamente, apesar das diferenças percentuais não houve diferença estatística na comparação entre os grupos (P=0,076).

Em relação às frequências alélicas, nota-se que a presença do alelo C foi maior no grupo controle (91,2%, n=104), a presença do alelo T foi encontrada em maior porcentagem no grupo caso (14,3%, n=26). Não foi verificada diferença estatística nesse quesito (P=0,158).

**Tabela 10.** Distribuição genotípica do polimorfismo VEGF +936 CT nos grupos caso e controle.

VEGF +936 C/T (rs3025039)	Grupos				P	OR	IC (OR)
	AVEH/Aneurisma		Controle				
	N	%	N	%			
Genótipos	C/C	67	73,6	49	86,0		
	C/T	22	24,2	6	10,5	0,113	NA NA
	T/T	2	2,2	2	3,5		
	C/C	67	73,6	49	86,0	0,076	0,46 0,19-1,09
	C/T+T/T	24	26,4	8	14,0		
Alelos	C	156	85,7	104	91,2	0,158	0,56 0,27-1,25
	T	26	14,3	10	8,8		

(N) número amostral; (P) probabilidade; (NA) não se aplica; (OR) Odds Ratio; (IC) Intervalo de confiança.

Diversos estudos com o polimorfismo do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) na posição +936 C/T já foram realizados. Sua possível associação e susceptibilidade a diversas patologias já foram descritos e apresentam resultados

que distinguem entre si. As influências do polimorfismo são reconhecidas diferenciando-se entre as diversas patologias. A associação do genótipo VEGF +936 C/T já foi relatada com a perturbação da homeostase vascular em pacientes com doença de Kawasaki (vasculite pediátrica de artérias de tamanho médio) (BREUNIS et al., 2012), a degeneração macular relacionada a idade neovascular (QU, 2011), câncer de ovário epitelial (BHASKARI, 2016) e retinopatia diabética, no qual a meta-análise encontrou relação significativa entre o polimorfismo VEGF +936C/T nas populações asiáticas (HAN et al., 2014). É importante salientar que a análise de uma provável associação do polimorfismo VEGF +936C/T em pacientes acometidos com Aneurisma Intracerebral e/ou pacientes acometidos por Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico é inovadora no que diz respeito a tal polimorfismo.

Wu, et al. (2013) em estudo de meta-análise investigou a relação entre os dois polimorfismos mais frequentemente investigados do gene VEGF, +936 C>T e 1154 G>A e os acidentes vasculares cerebrais. Os resultados da meta-análise indicaram que um dos polimorfismos, +936 C>T pode estar relacionado ao aumento do risco de AVE, especialmente em Asiáticos, porém não teve relação com o outro polimorfismo investigado.

Fontanella et al. (2013) em seu estudo avaliou a possibilidade de modificação de um alelo ou genótipo no gene VEGF na ocorrência de hemorragia subaracnóide aneurismática e características clínicas relacionadas em uma população italiana. Foi examinado o polimorfismo bialélico (C>T) na posição +936C/T (rs3025039) e uma microdeleção de 18 pb na região promotora. Participaram da pesquisa 200 pacientes (69 homens e 131 mulheres) com aneurismas cerebrais. Durante a avaliação não foram encontradas diferenças significativas entre as frequências alélicas e genotípicas nos grupos caso e controle. Portanto, a associação genética entre VEGF e hemorragia subaracnóide aneurismática não se confirmou, sugerindo que esse gene não é o principal fator de risco genético para doença.

A associação entre o polimorfismo VEGF +936C/T, seus genótipos, características clínicas (HAS, Diabetes, Tabagismo ou etilismo) e o perfil de escalas de consciência (Escala de Glasgow, Escala de Rankin e Índice de Barthel) foi observada nos pacientes do grupo AVEH/Aneurisma (tabela 11).

**Tabela 11.** Características clínicas associadas à ocorrência de AVEH/aneurisma e escalas de consciência relacionadas ao polimorfismo por genótipo C/C, C/T + T/T do polimorfismo VEGF +936 CT em pacientes do grupo caso.

a		VEGF +936C/T (rs3025039)				P	OR	IC (OR)
		C/C		C/T+T/T				
		N	%	N	%			
HAS	sim	53	79,1	17	70,8	0,41	1,56	0,54-4,50
	não	14	20,9	7	29,2			
Diabetes	sim	2	3,0	1	4,2	0,61	0,71	0,06-8,18
	não	65	97,0	23	95,8			
Tabagismo	sim	24	35,8	11	45,8	0,39	0,66	0,26-1,70
	não	43	64,2	13	54,2			
Etilismo	sim	18	26,9	6	25,0	0,86	1,1	0,38-3,21
	não	49	73,1	18	75,0			
Glasgow	coma	6	9,0	1	4,2	0,51	NA	NA
	intermediário							
	coma superficial	2	3,0	0	0,0			
	normalidade	59	88,1	23	95,8			
Rankin	assintomático	17	25,4	6	25,0	0,54	NA	NA
	sintoma sem incapacidade	37	55,2	17	70,8			
	incapacidade leve	2	3,0	0	0,0			
	incapacidade moderada	3	4,5	0	0,0			
	incapacidade moderada a grave	4	6,0	1	4,2			
	incapacidade grave	4	6,0	0	0,0			

Índice de Barthel	incapacidade severa	8	11,9	1	4,2			
	incapacidade moderada	5	7,5	1	4,2	0,59	NA	NA
	incapacidade leve	28	41,8	10	41,7			
	independencia funcional	26	38,8	12	50,0			

a. Grupos = AVEH/Aneurisma; (HAS) Hipertensão Arterial Sistêmica; (N) número amostral; (P) probabilidade; (NA) não se aplica; (OR) Odds Ratio; (IC) Intervalo de confiança.

Entre os participantes da pesquisa pertencentes ao grupo AVEH/Aneurisma, 79,1 % com genótipo C/C e 70,8 % com genótipo C/T + T/T possuíam HAS. Essa diferença não foi estatisticamente significativa. No que se refere a Diabetes, a maioria dos pacientes revelou não ser portador tanto no genótipo C/C quanto nos genótipos C/T + T/T. Essa avaliação também não apresentou relevância estatística ( $P=0,61$ ). Tabagismo e etilismo revelaram resultados semelhantes, pois tanto no genótipo C/C quanto nos C/T + T/T essas variáveis representaram maioria negativa, afirmando que maior parte desses pacientes não eram adeptos desses hábitos. Concomitantemente, não foi obtida relevância estatística para essas avaliações.

A identificação e controle de fatores de risco têm como objetivo a prevenção primária de AVE na população. A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é considerada o principal fator de risco para AVE e o precursor mais comum. O risco de desenvolver AVE é quatro vezes maior em hipertensos em relação à população normotensa (CHAVES, 2000; KANNEL et al., 1970). Apesar da evidência, os resultados do presente estudo não são compatíveis com a literatura, eliminando a HAS como fator de risco de AVEH/Aneurisma.

Diabetes também é considerada importante no AVE sendo o segundo fator mais importante após a HAS. Essa patologia envolve mecanismos etiopatogênicos que envolvem alterações hemodinâmicas cerebrais. O tabagismo é um relevante fator de risco principalmente pelo sinergismo com HAS e Diabetes, porém o fumo contribui de forma independente para o AVE com maior risco para a HSA, contudo ainda é inconclusiva a associação do número de cigarros e o aumento do risco. O etilismo como fator de risco sofre influências de variáveis comportamentais e assim

como o tabagismo pode atuar como o efeito sinérgico a outras patologias. (CHAVES, 2000; FERNANDES, 2009)

No presente estudo, nenhuma das variáveis associadas aos fatores de risco foi estatisticamente significativa, ou seja, não foi observada ligação entre os fatores de risco e a ocorrência de AVEH/Aneurisma. Conseqüentemente também não foi obtida a associação genotípica e alélica do polimorfismo do gene VEGF +936C/T.

Nos últimos anos diversos instrumentos para a avaliação do nível de consciência vêm sendo utilizados na prática clínica no formato de escalas, o objetivo é manter um padrão de avaliação da evolução clínica de pacientes e também a melhora na comunicação entre os integrantes das equipes de saúde além da agilidade nos serviços de emergência, deve ser simples, objetivo, preciso e confiável (OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014)

A escala de coma de Glasgow (ECG) destina-se a avaliação da profundidade e duração do comprometimento da consciência e o coma. Esses níveis são definidos através de avaliações comportamentais baseados em valores numéricos. A escala modificada de Rankin (EmR) mensura o grau de incapacidade e a dependência em atividades diárias de pacientes acometidos pelo AVE. Já o índice de Barthel relaciona-se a avaliação no que diz respeito às atividades diárias, mede a independência funcional no cuidado pessoal, mobilidade, locomoção e eliminações (OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014; BRITO et al., 2013; MINOSSO et al., 2010).

Quando avaliados os pacientes do grupo caso no que se refere às escalas de consciência, os resultados relacionados à escala de Glasgow revelaram maioria apresentando normalidade tanto no genótipo C/C quanto nos C/T + T/T. Por outro lado, 9,0% dos pacientes com genótipo C/C e apenas um (4,2%), representante dos genótipos C/T + T/T estavam classificados na condição de coma intermediário. Já o coma superficial, foi representado por dois pacientes (3,0%), relacionando-se com o genótipo C/C. Os resultados para a Escala de Glasgow não representaram diferença estatística.

Avaliando a Escala de Rankin 6% dos pacientes com genótipo C/C possuíam incapacidade grave e nenhum paciente com os genótipos C/T + T/T foi apontado nesse quesito, portanto, não apresentando diferença estatística ( $P= 0,54$ ). Quanto ao Índice de Barthel 11,9% com genótipo C/C tinham incapacidade severa contra apenas um (4,2%) com os genótipos C/T + T/T. Pacientes que apresentaram

incapacidade leve tiveram resultados percentuais próximos tanto no genótipo C/C quanto nos C/T e T/T, 41,8 % e 41,7%, respectivamente. Não houve diferença estatística.

A avaliação referente à frequência genotípica do polimorfismo +936C/T em relação às escalas avaliativas de comprometimento dos participantes do estudo acometidos por AVEH e Aneurisma Intracerebral (Escala de Glasgow, Escala de Rankin, e Índice Barthel) não mostrou significância em nenhuma das escalas utilizadas, portanto, para o presente estudo, não podem ser considerados bons instrumentos de avaliação de comprometimento do nível de consciência e/ou independência funcional.

A associação entre o polimorfismo VEGF +936C/T, seus genótipos, características clínicas (HAS, Diabetes, Tabagismo ou etilismo) e o perfil nos pacientes do grupo controle também foi observada (tabela 12).

**Tabela 12.** Características clínicas associadas à ocorrência de AVEH/aneurisma relacionadas ao polimorfismo por genótipo C/C, C/T + T/T do polimorfismo VEGF +936C/T em pacientes do grupo controle.

		VEGF +936 C/T (rs3025039)				P	OR	IC (OR)
		C/C		C/T+T/T				
	<sup>b</sup>	N	%	N	%			
HAS	sim	5	10,2	1	12,5	0,615	0,80	0,08-7,86
	não	44	89,8	7	87,5			
Diabetes	sim	0	0,0	0	0,0	0,999	NA	NA
	não	49	100,0	8	100,0			
Tabagismo	sim	18	36,7	2	25,0	0,415	1,74	0,32-9,56
	não	31	63,3	6	75,0			
Etilismo	sim	15	30,6	2	25,0	0,554	1,32	0,24-7,34
	não	34	69,4	6	75,0			

b. Grupos = Controle; (HAS) Hipertensão Arterial Sistêmica; (N) número amostral; (P) probabilidade; (NA) não se aplica; (OR) Odds Ratio; (IC) Intervalo de confiança.

Quanto ao grupo controle, no que tange as características clínicas, a maioria dos participantes revelou não ser portador de HAS, sendo a porcentagem do genótipo C/C maior (89,8%). No que se refere a Diabetes nenhum paciente tanto do

grupo caso quanto controle era portador da patologia. Quanto ao tabagismo e etilismo a maioria dos pacientes revela não terem tais hábitos tanto os que apresentaram genótipo C/C quanto os genótipos C/T + T/T, tais dados não obtiveram diferença estatística em nenhuma das variáveis.

## 7. CONCLUSÕES

O presente estudo buscou procurar associação do polimorfismo do gene VEGF +936 C/T e a ocorrência de AVEH e/ou Aneurisma intracerebral. Quanto à caracterização dos grupos de estudo foi encontrada homogeneidade no que diz respeito ao sexo, porém isso não foi notado quando se avaliou a idade. Identificaram-se maiores frequências genotípicas +936 C/C e alélica para +936 C tanto no que se refere aos pacientes acometidos por AVEH/Aneurisma quanto aos indivíduos controle (saudáveis), revelando semelhança entre os diferentes grupos o que pode ter tornado as diferenças estatísticas não significativas. Porém, o estudo mostra representatividade quanto à frequência alélica e genotípica, já que o alelo T é o menos comum e está associado a níveis circulantes mais baixos do gene VEGF. Portanto, não foram detectadas evidências de que as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo +936C/T possam ter influência sobre as escalas avaliadoras de nível de comprometimento neurológico e dependência funcional e nem sobre os fatores de risco também atribuídos ao estudo.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO CHAGAS COSTA LIMA, Ana Carolina Maria et al. Nursing diagnoses in patients with cerebral vascular accident: an integrative review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 69, n. 4, 2016.

ARAÚJO, Fátima et al. Validação do Índice de Barthel numa amostra de idosos não institucionalizados. **Revista portuguesa de saúde pública**, v. 25, n. 2, p. 59-66, 2007.

AZEVEDO, Raymundo Soares. Evidências de genes associados a acidente vascular cerebral. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo , v. 55, n. 3, 2009.

BHASKARI, J. et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms and a synchronized examination of plasma and tissue expression in epithelial ovarian cancers. **Tumor Biology**, v. 37, n. 1, p. 1017-1023, 2016.

BONNEVILLE, Fabrice; SOUROUR, Nader; BIONDI, Alessandra. Intracranial aneurysms: an overview. **Neuroimaging Clinics of North America**, v. 16, n. 3, p. 371-382, 2006.

BREUNIS, Willemijn B. et al. Disruption of vascular homeostasis in patients with Kawasaki disease: involvement of vascular endothelial growth factor and angiopoietins. **Arthritis & Rheumatism**, v. 64, n. 1, p. 306-315, 2012.

BURACZYNSKA, M.; KSIAZEK, P.; BARANOWICZ-GASZCZYK, I.; et al. Association of the VEGF gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. **Nephrol Dial Transplant**. v. 22, p. 827–832, 2007.

BUSHNELL, Cheryl et al. Guidelines for the Prevention of Stroke in Women. **Stroke**, v. 45, n. 5, p. 1545-1588, 2014.

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

DA SILVA FERREIRA, Ana Isabel; FERREIRA, Gislene. Prevalência de mortalidade por doenças cardiovasculares em uma cidade do sul de Minas Gerais nos anos de 1999 a 2008/Prevalence of cardiovascular mortality in a southern city of Minas Gerais in the years 1999 to 2008. **REVISTA CIÊNCIAS EM SAÚDE**, v. 2, n. 2, p. 57-66, 2012.

DE MEDEIROS, Candice Simões Pimenta et al. Efeito da terapia de espelho por meio de atividades funcionais e padrões motores na função do membro superior pós-acidente vascular encefálico. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 21, n. 3, p. 264-270, 2014.

DE PADUA MANSUR, Antonio; FAVARATO, Desidério. Mortalidade por Doenças Cardiovasculares em Mulheres e Homens nas cinco Regiões do Brasil, 1980-2012. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 2, p. 137-146, 2016.

DVORAK, Harold F. et al. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 57, n. 6, p. 673-686, 1987.

EPAIN ASSIST BRAIN INFORMATION CENTER. Disponível em: <<https://www.epainassist.com/brain/brain-aneurysm-or-cerebral-aneurysm>> Acesso em: Maio 2017.

ESCALA DE BARTHEL. Disponível em: <<http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/2503/5/%C3%8Dndice%20de%20Barthel.pdf>> Acesso em: Maio 2017.

FÁTIMA, L. A.; PAPA, C. P. Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF): regulação transcricional e pós-transcricional. **Revista da biologia**, v. 4, 2010.

FERNANDES, Paula Teixeira. Aspectos psicossociais do AVC. **ComCiência**, Campinas, n.109, 2009. Disponível em <[http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-76542009000500027&lng=pt&nrm=iso](http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-76542009000500027&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em : Maio 2017.

FONTANELLA, Marco et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and intracranial aneurysms. **Acta neurochirurgica**, v. 155, n. 8, p. 1511-1515, 2013.

GOLDSTEIN, D B., CAVALLERI G. L. Understanding human diversity. **Nature**, v. 437, p.1241-1242, 2005.

GREENBERG, David A.; AMINOFF, Michael J.; SIMON, Roger P. **Neurologia clínica-8**. AMGH Editora, 2014.

HAN, Liyuan et al. The associations between VEGF gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis of 11 case-control studies. **Journal of diabetes research**, v. 2014, 2014.

KANNEL, William B. et al. Epidemiologic assessment of the role of blood pressure in stroke: the Framingham study. **Jama**, v. 214, n. 2, p. 301-310, 1970

LINDGREN, Arne; MAGUIRE, Jane. Stroke Recovery Genetics. **Stroke**, v. 47, n. 9, p. 2427-2434, 2016.

MAGISTRIS, Fabio; BAZAK, S.; MARTIN, J. Intracerebral hemorrhage: pathophysiology, diagnosis and management. **MUMJ**, v. 10, n. 1, p. 15-22, 2013.

MINOSSO, J. S. M.; AMENDOLA, F.; ALVARENGA, M. R. M.; OLIVEIRA, M. A. C. Validação, no Brasil, do Índice de Barthel em idosos atendidos em ambulatórios. **Acta paul. enferm.** v. 23, n. 2, p. 218-223, 2010.

NUNES Sara; PEREIRA, Carla; SILVA, Madalena Gomes. Evolução funcional de utentes após AVC nos primeiros seis meses após a lesão. **EssFisiOnline**, v. 1, n. 3, p. 3-20, 2005.

OLIVEIRA, D. M. P.; PEREIRA, C. U.; FREITAS, Z. M. P. Escalas para avaliação do nível de consciência em trauma cranioencefálico e sua relevância para a prática de enfermagem em neurocirurgia. **Arq Bras Neurocir.** V. 33, n. 1, p. 22-32, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Doenças Cardiovasculares. Disponível em: <[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5253%3Adoenças-cardiovasculares&catid=845%3Anoticias&Itemid=839](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253%3Adoenças-cardiovasculares&catid=845%3Anoticias&Itemid=839)> Acesso em: Maio 2017.

PEIXOTO, Raiza Luna et al. Variações anatômicas na porção posterior do polígono de Willis. **Ciência & Saúde**, v. 8, n. 1, p. 2-6, 2015.

PEREIRA, Ana Beatriz Calmon Nogueira da et al. Prevalência de acidente vascular cerebral em idosos no Município de Vassouras, Rio de Janeiro, Brasil, através do rastreamento de dados do Programa Saúde da Família. **Cad Saúde Pública**, p. 1929-1936, 2009.

QU, Yi et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of neovascular age-related macular degeneration in a Chinese cohort. **Ophthalmic research**, v. 45, n. 3, p. 142-148, 2011.

REDE BRASIL AVC. Uma ameaça silenciosa. **Zero Hora**, 7 de agosto de 2010. Disponível em: <<http://www.redebrasilavc.org.br/para-pacientes-e-falimiores/o-que-e-aneurisma-cerebral/>>. Acesso em: Abril 2017.

RENNER, Wilfried et al. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. **Journal of vascular research**, v. 37, n. 6, p. 443-448, 2000.

ROBERT WOOD JOHNSON UNIVERSITY HOSPITAL. Aneurisma Cerebral. Disponível em: <<http://www.rwjuh.edu/brain-aneurysm/brain-aneurysm-overview.aspx>>. Acesso em: Maio 2017.

ROBERTS, W. G.; PALADE, G. Maior permeabilidade microvascular e fenestration endotelial induzida pelo fator de crescimento vascular endotelial. **J Cell Sci.** v. 108, p. 2369-2379, 1995.

ROBINSON, Stephen R. et al. Hemin toxicity: a preventable source of brain damage following hemorrhagic stroke. **Redox Report**, v. 14, n. 6, p. 228-235, 2009.

SALAZAR PELAÉZ, Lina María et al. Polimorfismos genéticos da interleucina-1 e o risco de periodontite periapical crônica numa população de Antioquia, Colômbia. 2012..

SANDALCIOGLU, I. Erol et al. VEGF plasma levels in nonruptured intracranial aneurysms. **Neurosurgical review**, v. 29, n. 1, p. 26-29, 2006.

SCHINCARIOL, Luciana Pasqualini et al. DETECÇÃO DE POLIMORFISMO DE ÚNICA BASE (SNPs) PELAS TÉCNICAS DE PCR-RFLP E ARMS-PCR NO CAFÉ. 2011.

SESHADRI, Sudha et al. The lifetime risk of stroke. **Stroke**, v. 37, n. 2, p. 345-350, 2006.

SILVA, Mônica Valéria da. Aspectos clínicos e epidemiológicos dos casos de acidente vascular encefálico hemorrágico intraparenquimatoso: perfil epidemiológico em uma série monocêntrica no Distrito Federal. 2013.

SKIRGAUDAS, Mark et al. Expression of angiogenesis factors and selected vascular wall matrix proteins in intracranial saccular aneurysms. **Neurosurgery**, v. 39, n. 3, p. 537-547, 1996.

SONG, Gwan Gyu; KIM, Jae-Hoon; LEE, Young Ho. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and vasculitis susceptibility: A meta-analysis. **Human immunology**, v. 75, n. 6, p. 541-548, 2014.

TRUELSEN, T. et al. Standard method for developing stroke registers in low-income and middle-income countries: experiences from a feasibility study of a stepwise approach to stroke surveillance (STEPS Stroke). **The Lancet Neurology**, v. 6, n. 2, p. 134-139, 2007.

TURCATO, C.; PEREIRA, S. W.; GHIZONI, M. F.; Hemorragia subaracnóide **Arquivos Catarinenses de Medicina**. v. 35, n. 2, p.78-84, 2006.

VINCENTI, V.; CASSANO, C.; ROCCHI, M.; PERSICO, G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. **Circulation** v. 93, p. 1493–1495, 1996.

WOLF, Gerald et al. The 936C> T polymorphism of the gene for vascular endothelial growth factor is associated with 18F-fluorodeoxyglucose uptake. **Breast cancer research and treatment**, v. 88, n. 3, p. 205-208, 2004.

WU, Tao et al. The association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and stroke: a meta - analysis. **Brain and behavior**, v. 6, n. 7, 2016.

## 9. 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.**

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: \_\_\_\_\_

Índice de Barthel: \_\_\_\_\_

Tomografia: \_\_\_\_\_

Angiografia: \_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE**

### **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 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 \_\_\_\_\_

**ANEXO E. Escala de coma de Glasgow**

<b>Variáveis</b>		<b>Escore</b>
Abertura Ocular	Espontânea	4
	À voz (comando verbal)	3
	À dor	2
	Ausente	1
	Não testável (NT)- Em pacientes com edema ou hematoma que impossibilita a abertura dos olhos	
Melhor resposta verbal	Orientado	5
	Confuso	4
	Palavras inapropriadas	3
	Palavras ou sons	2
	Incompreensivos	1
	Sem resposta	
	Não testável (NT)- Em pacientes intubados	
Resposta motora	Obedece a comandos	6
	Localiza dor	5
	Movimento de retirada à dor	4
	Flexão anormal	3
	Extensão anormal	2
	Nenhuma resposta	1

Fonte: OLIVEIRA, PEREIRA & FREITAS, 2014, modificado

## ANEXO F. Escala de Barthel

<b>Atividade</b>	<b>Pontuação</b>
<b>Alimentação</b>	
0 = incapacitado 5 = precisa de ajuda para cortar, passar manteiga, etc, ou dieta modificada 10 = independente	
<b>Banho</b>	
0 = dependente 5 = independente (ou no chuveiro)	
<b>Atividades Rotineiras</b>	
0 = precisa de ajuda com a higiene pessoal 5 = independente rosto/cabelo/dentes/barbear	
<b>Vestir-se</b>	
0 = dependente 5 = precisa de ajuda mas consegue fazer uma parte sozinho 10 = independente (incluindo botões, zippers, laços, etc.)	
<b>Intestino</b>	
0 = incontinente 5 = acidente ocasional 10 = continente	
<b>Sistema urinário</b>	
0 = incontinente, ou caracterizado e incapaz de manejo 5 = acidente ocasional 10 = continente	
<b>Uso do toilet</b>	
0 = dependente 5 = precisa de alguma ajuda parcial 10 = independente (pentear-se, limpar-se)	
<b>Transferência (da cama para a cadeira e vice versa)</b>	
0 = incapacitado 5 = muita ajuda (uma ou duas pessoas, física), pode sentar 10 = pouca ajuda (verbal ou física) 15 = independente	
<b>Mobilidade (em superfícies planas)</b>	
0 = imóvel ou < 50 metros 5 = cadeira de rodas independente, incluindo esquinas, > 50 metros 10 = caminha com ajuda de uma pessoa (verbal ou física), > 50 metros 15 = independente (mas pode precisar de alguma ajuda; como exemplo, bengala) > 50 metros	
<b>Escadas</b>	
0 = incapacitado 5 = precisa de ajuda (verbal, física ou ser carregado) 10 = independente	

Fonte: Adaptado de <http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/2503/5/%C3%8Dndice%20de%20Barthel.pdf>