



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

**GEIZA CARNEIRO TORRES**

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO *IL4* E CARACTERÍSTICA CLÍNICA EM  
UMA AMOSTRA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO**

**BRASÍLIA, 2021**

GEIZA CARNEIRO TORRES

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO *IL4* E CARACTERÍSTICA CLÍNICA EM  
UMA AMOSTRA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO**

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

**Orientador: Gabriel Moura Alves Seixas**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

BRASÍLIA, 2021

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

CT693a Carneiro Torres, Geiza  
Associação do Polimorfismo IL4 e Característica Clínica em  
uma Amostra de Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico /  
Geiza Carneiro Torres; orientador Gabriel Moura Alves  
Seixas; co-orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -  
Brasília, 2021.  
58 p.

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

1. Interleucina-4. 2. Polimorfismo. 3. AVE. I. Moura  
Alves Seixas, Gabriel, orient. II. Rodrigues da Silva,  
Izabel Cristina, co-orient. III. Título.

GEIZA CARNEIRO TORRES

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO *IL4* E CARACTERÍSTICA CLÍNICA EM  
UMA AMOSTRA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO**

BANCA EXAMINADORA

---

Orientador: Gabriel Moura Alves Seixas

(Universidade de Brasília - FCE)

---

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

(Universidade de Brasília – FCE)

---

Aline Ribeiro Barros

(Universidade de Brasília - FCE)

---

Ligia Canongia de Abreu Cardoso

(Universidade de Brasília - FCE)

BRASÍLIA, 2021

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro agradeço a Deus, por todos os momentos em que fui sustentada por Ele para superar todos os desafios que surgiram ao longo da caminhada.

Agradeço aos meus pais, João Ramalho e Maria Vilma, por todo o suporte, pelo esforço que fizeram para me educar, pelas palavras de incentivo e por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos.

À minha irmã, Bruna, por todos os conselhos, pelo apoio e pela compreensão e por todas as vezes em que me ajudou a superar minhas fraquezas e medos. Claro, não poderia deixar de mencionar as pessoas que você me trouxe e que me enchem de alegria todas as vezes em que brincamos juntos, Lorenzo e Lorena, meus queridos sobrinhos.

À pessoa que torna os meus dias melhores, que está sempre ao meu lado, que me compreende e torna a vida mais leve, Fabio Henrique. Sou muito grata por todo o carinho, amor e incentivo.

Não poderia faltar um agradecimento às amigas de longa data, Ingrid Alves, a enfermeira mais dedicada que conheço, e Izabelli Luiza, a pessoa mais divertida do trio. Aos amigos que fiz ao longo da graduação, Letícia, Sheila, Kettle, Josivan, Ana Beatriz e Katielle. Vocês tornaram a caminhada mais leve e divertida, agradeço por todos os momentos bons e ruins que enfrentamos juntos.

Agradeço à professora Izabel Cristina, pela oportunidade no laboratório e pela paixão que tem por ensinar, isso foi sempre muito motivador para mim. Ao meu co-orientador, Gabriel Seixas, pela paciência e pelas preciosas dicas. A Ligia Canongia e Aline Barros, por aceitarem o convite para compor a banca.

E por fim, e não menos importante, a todos os professores que contribuíram para a minha formação, todos foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

## Sumário

|                                                         |           |
|---------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Revisão da Literatura .....</b>                   | <b>08</b> |
| 1.1 Definição e Epidemiologia .....                     | 08        |
| 1.2 Fatores de Risco e Diagnóstico .....                | 08        |
| 1.3 Fisiopatologia .....                                | 09        |
| 1.4 Acidente Vascular Encefálico e Interleucina-4 ..... | 10        |
| <b>2. Justificativa .....</b>                           | <b>14</b> |
| <b>3. Objetivos .....</b>                               | <b>14</b> |
| 3.1 Objetivos Específicos .....                         | 14        |
| <b>4. Referências .....</b>                             | <b>16</b> |
| <b>5. Artigo .....</b>                                  | <b>20</b> |
| <b>RESUMO.....</b>                                      | <b>21</b> |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                    | <b>22</b> |
| 5.1 Introdução .....                                    | 23        |
| 5.2 Métodos .....                                       | 24        |
| 5.2.1 Participantes .....                               | 24        |
| 5.2.2 Procedimentos .....                               | 24        |
| 5.2.3 Análise Estatística .....                         | 25        |
| 5.3 Resultados e Discussão .....                        | 25        |

|                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.4 Conclusão .....                                              | 29        |
| 5.5 Referências .....                                            | 30        |
| <b>6. Anexos.....</b>                                            | <b>34</b> |
| <b>ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética.....</b>                 | <b>34</b> |
| <b>ANEXO B - Ficha de identificação dos participantes.....</b>   | <b>35</b> |
| <b>ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b> | <b>37</b> |
| <b>ANEXO D - Termo de guarda de material biológico.....</b>      | <b>45</b> |
| <b>ANEXO E - Normas do Periódico.....</b>                        | <b>51</b> |

## **Lista de tabelas**

**Tabela 1.** Distribuição do genótipo de *IL4* INTRON 3 VNTR entre os pacientes portadores de AVE.

**Tabela 2.** Distribuição dos genótipos de *IL4* INTRON 3 VNTR conforme as variáveis sexo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes, tabagismo, etilismo e Escala de Rankin Modificada (ERM) dos pacientes portadores de AVE.



## **1 .Revisão da Literatura**

### **1.1 Definição e Epidemiologia**

O acidente vascular encefálico (AVE) origina-se por meio de de obstrução (AVE isquêmico) ou rompimento (AVE hemorrágico) de vasos sanguíneos do cérebro (FARIAS; ALMEIDA, 2019), causando a interrupção do fluxo sanguíneo em determinada região encefálica (BRASIL, 2013; MAGALHÃES, 2016; PAIVA et al., 2016; SANTOS, 2019), sendo um evento agudo (MAMED et al., 2019), que persiste por 24 horas (BRASIL, 2013; MAGALHÃES, 2016; SANTOS, 2019) e ocasiona perda repentina da função neurológica (LIMA; PETRIBÚ, 2016).

O AVE classifica-se em isquêmico ou hemorrágico, sendo o primeiro responsável por 80-85% dos casos e o segundo por 15% (ALVES; SANTANA; AOYAMA, 2020; SANTOS; WATERS, 2020). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2019 o acidente vascular encefálico foi a segunda maior causa de morte no mundo, responsável por aproximadamente 11% das 55,4 milhões de mortes que ocorreram globalmente por doenças transmissíveis e doenças crônicas não transmissíveis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

De acordo com o *Global Burden of Disease Study* (GBD), da Universidade de Washington, no Brasil ocorreram aproximadamente 103.007,003 mortes no ano de 2019 (IHME, 2019). Ainda no cenário brasileiro, o AVE representa a segunda maior causa de morte, sendo que a população adulta-idosa é a mais afetada e possui o maior número de óbitos e sequelas. A prevalência na população idosa no ano de 2017 foi de 78,1% das 152.221 internações por AVE (DAL PIZZOL, 2018).

### **1.2 Fatores de Risco e Diagnóstico**

De modo geral, os fatores de risco para AVE incluem idade, sexo, etnia, diabetes, sedentarismo, uso de álcool e outras drogas, dislipidemias e hipertensão arterial sistêmica, sendo que este último é o principal fator de risco para AVE hemorrágico (AVEH) (KURIAKOSE; XIAO, 2020; SANTOS et al., 2020).

Além da história clínica e da avaliação dos exames laboratoriais e dos sinais e sintomas clínicos dos pacientes, os exames de imagem, como tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) também devem ser feitos, pois podem elucidar o local afetado e a dimensão das lesões (MOROTTI; GOLDSTEIN, 2016).

Também podem ser utilizadas ferramentas para avaliar o grau de incapacidade dos pacientes, como a Escala de Rankin Modificada (ERM), que é pontuada de 0 a 6 (LOCATELLI; FURLANETO; CATTANEO, 2017), na qual: 0, sem sintomas; 1, nenhuma incapacidade; 2, incapacidade leve; 3, incapacidade moderada; 4, incapacidade moderada a severa; 5, deficiência grave; e a pontuação 6 é determinada como óbito (BAPTISTA et al., 2018). Essa escala avalia o grau de dependência dos pacientes em relação aos seus cuidadores (ENDARA, 2018).

As sequelas apresentadas pelos indivíduos que sofreram AVE envolvem principalmente a realização de atividades básicas do cotidiano, o que determina o nível de dependência que o paciente terá em relação ao seu cuidador, impactando sua qualidade de vida (DAL PIZZOL, 2018). Os danos sensoriais e motores, como a hemiparesia, são os que mais prevalecem após a ocorrência de um AVE (VIEIRA, 2017).

### **1.3 Fisiopatologia**

O aporte sanguíneo para o cérebro é feito por meio do círculo arterial de Willis (KURIAKOSE; XIAO, 2020) e a ocorrência de acidente vascular encefálico provoca a diminuição ou ausência desse aporte. No AVE isquêmico (AVEI) a interrupção temporária ou permanente do fluxo sanguíneo se dá por meio do surgimento de trombos ou êmbolos (NAKIRI, 2018). O interrompimento do fluxo diminui o aporte de oxigênio, glicose e outros nutrientes e provoca uma série de alterações, como estresse oxidativo, disfunção da barreira hematoencefálica e surgimento de processo inflamatório, que podem levar a disfunção e morte celular (NAKIRI, 2018; VIEIRA, 2017).

O rompimento dos vasos origina o acidente vascular encefálico hemorrágico, o qual representa a minoria dos casos, porém alta taxa de mortalidade (KURIAKOSE; XIAO, 2020). Pode ocorrer de duas formas: intraparenquimatosa ou subaracnóidea. As

principais causas para este tipo de AVE são o rompimento de aneurisma e hipertensão arterial sistêmica (AZEVEDO; ARAÚJO; SOUZA, 2018; EBSERH, 2020).

Durante o AVE isquêmico, várias substâncias são liberadas do núcleo isquêmico (área lesada pela baixa oferta de oxigênio) para a área de penumbra (área que circunda o tecido lesionado e que possui capacidade de sobrevivência celular, podendo auxiliar na recuperação da área isquêmica) (NAKIRI, 2018; ROLIM et al., 2020). Dentre elas podem ser citadas substâncias pró-inflamatórias e anti-inflamatórias que podem influenciar na polarização da micróglia ao fenótipo M1 (pró-inflamatório) ou ao fenótipo M2 (anti-inflamatório) (ROLIM et al., 2020).

Tanto na hemorragia intracerebral quanto no AVEI, a micróglia, os astrócitos e os linfócitos T são os primeiros componentes do sistema imunológico recrutados para o local da lesão, modulando a resposta inflamatória ao dano provocado (TSCHOE et al., 2020).

#### **1.4 Acidente Vascular Encefálico e Interleucina-4**

Em resposta ao extravasamento de sangue para o parênquima, a micróglia é ativada, tornando-se altamente fagocítica, e possui dois fenótipos: M1 e M2 (TSCHOE et al., 2020).

O fenótipo M1 é pró-inflamatório, favorecendo o processo de aumento da lesão, e é caracterizado pela presença de citocinas inflamatórias, quimiocinas, óxido nítrico, dentre outros. Já o fenótipo M2 é antiinflamatório, e está associado a regeneração tecidual. A polarização da micróglia ao fenótipo pode estar associada à presença de Interleucina-4 (TSCHOE et al., 2020).

A Interleucina-4 (IL-4) é uma citocina anti-inflamatória produzida pelo subconjunto T helper (Th2) das células T CD4 + e acompanhada de outras citocinas, exerce influência sobre o sistema imune local, dependendo do tipo de estímulo e do ambiente (FILIANO; GADANI; KIPNIS, 2017). A ação da IL-4 no organismo se dá por meio da ligação com o receptor de superfície celular IL-4R, participando, por exemplo, da ativação de astrócitos e induzindo a secreção de Fator de Crescimento Neural (NGF), que participa de processos que desencadeiam a resolução da inflamação (LEAL, 2011; VICTORIA, 2018). O gene

que codifica a IL-4 está localizado na região cromossômica 5q31.1 (“IL4 interleukin 4 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI”, [s.d.]).

Dois tipos celulares estão presentes no processo inflamatório, células T CD8+ e células T CD4 +, que estão associados a danos e reparo tecidual, respectivamente. A IL-4 proveniente das células T CD4+ possivelmente atua como fator protetor por reduzir a inflamação, a qual promove aumento da lesão no tecido afetado. A Interleucina-4 é liberada quando estímulos provenientes de condições fisiopatológicas ativam a micróglia em direção ao fenótipo M2 (ativação alternativa), reduzindo a inflamação e influenciando positivamente na reparação tecidual (NIKOLIC et al., 2020).

Experimentos realizados com modelos animais para o acidente vascular encefálico isquêmico foram indicativos de que durante a ocorrência deste evento a IL-4 funcionou como mecanismo protetor do cérebro, induzindo a diferenciação de células Th2 e a polarização da micróglia. Se ativada alternativamente, em direção ao fenótipo M2 relaciona-se com o reparo tecidual e liberação de citocinas anti-inflamatórias, que ao contrário da ativação clássica (fenótipo M1), inibe a liberação de citocinas pró-inflamatórias (YE; GAO; CHENG, 2018).

Após a oclusão transitória ou permanente da artéria cerebral média em camundongos foi demonstrado que os animais que tinham deficiência de IL-4 apresentaram prejuízo sensorio-motor e cognitivo após AVE isquêmico, já os animais que receberam suplementação com esta citocina obtiveram melhora funcional. A influência de IL-4 na polarização da micróglia ao fenótipo M2 a longo prazo diminui a perda neuronal, porém não foi estabelecido que este fenótipo seja suficiente para promover neuroproteção e evitar danos nos estágios finais de AVE isquêmico (LIU et al., 2016).

IL-4 e fator de crescimento transformador beta-1 (TGF- $\beta$ 1) influenciaram na recuperação funcional e na resposta anti-inflamatória após um episódio de hemorragia cerebral. A influência do fenótipo M2 e a polarização deste não é muito conhecida para o AVEH, e foi menos estudada que o fenótipo M1, mas é esperado que esteja associado não somente como fator protetor para o AVE isquêmico, como também para outras doenças que acometem o sistema nervoso central (LAN et al., 2017).

A partir de experimentos feitos com camundongos, Lan et al. (2017) demonstraram que na fase aguda de hemorragia cerebral, a ativação de fenótipo M1 induz o recrutamento de substâncias envolvidas com o dano cerebral a curto prazo, enquanto a longo prazo o fenótipo M2 está associado à recuperação do tecido.

Estudos recentes demonstram que a micróglia está relacionada à manutenção de redes neurais e suas células são as primeiras a responder a estímulos lesivos ou infecciosos e auxiliar na reparação tecidual (TAYLOR et al., 2017). Dada a importância da polarização da micróglia nos estudos existentes, Nikolic et al. (2020) citam em sua pesquisa que a utilização de estratégias que resultem na transição de fenótipo M1 para o fenótipo M2 tem potencial terapêutico e podem ser adotadas durante o tratamento da fase aguda de ambos os tipos de AVE.

O AVE é uma doença multifatorial, que possui fatores genéticos tanto em sua forma aguda quanto subaguda. Há algumas evidências que apontam que polimorfismos genéticos do gene que codifica a IL-4 podem influenciar a regulação da resposta inflamatória e o risco para os dois tipos de AVE (ROLIM et al., 2020). Danos neuronais podem estar associados a diferentes polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) (NIKOLIC et al., 2020).

Polimorfismos genéticos podem ser definidos como as variações genéticas que ocorrem com frequência superior a 1% na população. Estão relacionados com fatores de risco para algumas doenças, mas também são responsáveis pela diversidade fenotípica nos humanos (ROCHA et al., 2007).

Existem vários tipos de polimorfismos, dos quais podem ser citados dois tipos: *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) e *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTRs). Os SNPs são caracterizados pela troca de bases, ocorrem tanto em regiões codificadoras quanto em regiões não codificadoras, e é a variação genética mais encontrada em humanos (90%) (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017). Os VNTRs são caracterizados por repetições em série de uma mesma sequência (LEITE et al., 2013).

O gene *IL4*, que codifica a interleucina-4, possui um polimorfismo no íntron 3 de 70 pb, do tipo VNTR, que pode influenciar a expressão desta citocina e o risco de acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) (BARROS et al., 2020; ROLIM et al., 2020). Esse polimorfismo possui os alelos B1 (duas repetições), e B2 (três repetições). O alelo B2 pode estar mais relacionado com a diminuição da expressão de IL-4 (BARROS et al., 2020; AL-EITAN et al., 2019).

Os SNPs da região 5' não traduzida (UTR) rs2070874 na posição -33T/C e da região promotora rs2243250 posição 524T/C do gene *IL4*, foram investigados em um estudo coreano para elucidar a associação destes com o AVEH. Foram encontrados os genótipos TT, TC e CC. Após análise da frequência alélica verificou-se que há redução de risco associado ao alelo C, tanto para o polimorfismo rs2070874 quanto para o rs2243250, e que maior frequência alélica T estava associado com o aumento da expressão de IL-4. Foi verificado ainda que houve associação significativa entre os polimorfismos analisados e a possível ação de IL-4 na fisiopatologia da doença, em que os alelos C de ambos os polimorfismos (rs2070874 e rs2243250) podem ser relacionados como fator de proteção contra o AVEH (PARK et al., 2011).

Porém Park et al. (2011) citaram que a amostra estudada foi um fator limitante e que mais pesquisas precisam ser realizadas a fim de compreender como os polimorfismos do gene *IL4* podem influenciar a patogênese do AVEH e qual seria a ação promovida pela IL-4 no organismo.

Rolim et al. (2020) analisaram o polimorfismo rs2243250 na região promotora posição -589 C/T, buscando a correlação dos alelos com algumas características dos pacientes como sexo, preexistência de outras doenças e consumo de álcool e tabaco. Não foram demonstradas associações entre esse polimorfismo e as características já mencionadas dos pacientes, não havendo associação entre as variações desse polimorfismo com o risco para AVEH.

## 2. Justificativa

Após o AVE os pacientes podem apresentar complicações que impactam seu prognóstico, atividades sociais e cotidianas (BRASIL, 2013). Dentre essas complicações podem ser citadas o comprometimento da capacidade motora, cognitiva, comportamental e emocional (SANCHES, 2019).

Pela idade e presença de fatores de risco, os pacientes podem, por exemplo, fazer o uso de medicamentos para tratar doenças preexistentes ou para diminuir os efeitos das complicações que forem desenvolvidas. Os fármacos utilizados podem ser anti-hipertensivos, anti-hiperglicemiantes, antidepressivos e anticonvulsivantes (SANCHES, 2019).

A presença de um farmacêutico na equipe multiprofissional responsável pela assistência ao paciente contribui para a avaliação da farmacoterapia, visando a adesão ao tratamento e diminuição dos problemas relacionados ao uso desses medicamentos, considerando as condições clínicas de cada paciente.

Além disso, compreender as doenças também é necessário para o seu correto tratamento. Considerando que o AVE é uma doença multifatorial e possui fatores genéticos associados (NIKOLIC et al., 2020), estudar o polimorfismo intron 3 VNTR do gene que codifica a IL-4 pode ser útil para compreender se essa interleucina possui um papel relevante nas características clínicas do AVEH, pois alguns estudos mostram que polimorfismos genéticos do *IL4* podem influenciar a regulação da resposta inflamatória e o risco para os dois tipos de AVE, tanto o isquêmico quanto o hemorrágico (ROLIM et al., 2020).

## 3. Objetivos

Investigar se há associação entre o polimorfismo intron 3 VNTR de 70 pb do gene *IL4* e a as características clínicas do acidente vascular encefálico hemorrágico em pacientes diagnosticados com a doença.

### 3.1 Objetivos Específicos

a) Padronizar e executar as estratégias de biologia molecular (reação em cadeia da polimerase - PCR) para avaliar a frequência do polimorfismo estudado em pacientes

diagnosticados com AVEH

b) Investigar a possível associação do polimorfismo com as características clínicas da doença e prognóstico dos pacientes.



#### 4. Referências

ALVES, C. L.; SANTANA, D. S. DE; AOYAMA, E. DE A. Acidente Vascular Encefálico em Adultos Jovens com Ênfase nos Fatores de Risco. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, v. 2, n. 1, p. 1–6, jan. 2020.

AZEVEDO, G. V. DE O.; DE ARAÚJO, A. H. V.; DE SOUZA, T. A. Aspectos epidemiológicos do acidente vascular encefálico na Paraíba em 2016. **Fisioterapia Brasil**, v. 19, n. 5, p. S236–S241, nov. 2018.

BAPTISTA, S. C. P. D., et al. . Evaluation of death indicators and disability of patients attended in a stroke unit. **Texto e Contexto Enfermagem**, v. 27, 2ª ed., 2018.

BARROS, A. R. et al. Associação entre polimorfismos de citocinas inflamatórias com o carcinoma papilífero de tireóide. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, p. 13–23, 2020.

BRASIL. **Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Acidente Vascular Cerebral**. Brasília - Distrito Federal: Ministério da Saúde, 2013.

DAL PIZZOL, F. L. F. **Adaptação e validação da escala de capacidades do cuidador informal de idosos dependentes por AVC (ECCIID-AVC) para uso no Brasil**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

EBSERH. **Você conhece o Núcleo de Ações em AVC? — Ebserh**.

Endara, C. I. F. Factores de riesgo y su influencia en el pronóstico mediante escala de Nihss y escala de Rankin modificada a corto plazo al ingreso y al egreso hospitalario en pacientes con enfermedad Cerebrovascular Isquémica ingresados en Hospital Metropolitano, durante el periodo enero 2007-diciembre 2016. **Repositorio de Tesis de Grado y Posgrado de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador**, 2018.

FARIAS, F. N. Q. F. Q.; ALMEIDA, M. A. DE. Características epidemiológicas, clínicas e tratamento ofertado a jovens com acidente vascular cerebral. **Saúde (Santa Maria)**, v. 45, n. 1, abr. 2019.

FILIANO, A. J.; GADANI, S. P.; KIPNIS, J. **How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain?** *Nature Reviews Neuroscience* Nature

Publishing Group, , jun. 2017.

IHME. **GBD Compare** | **IHME Viz Hub**. Disponível em: <<https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>>. Acesso em: 2 out. 2021.

KURIAKOSE, D.; XIAO, Z. **Pathophysiology and treatment of stroke: Present status and future perspectives** *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 2 out. 2020. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC7589849/](https://pmc/articles/PMC7589849/)>. Acesso em: 2 out. 2021

LAN, X. et al. **Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage** *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group, , jul. 2017.

LEAL, M. M. T. **Avaliação do Potencial Antiinflamatório das Células Mononucleares de Medula Óssea em Camundongos com Epilepsia induzida por Cloreto de Pilocarpina**. Salvador, Bahia: [s.n.].

LEITE, V. S. et al. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, 10(34), 2013.

LIMA, A. D. G. T.; PETRIBÚ, K. **Acidente vascular encefálico: Revisão sistemática sobre qualidade de vida e sobrecarga de cuidadores**. Disponível em: <<https://www.revneuropsiq.com.br/rbnp/article/view/168>>. Acesso em: 16 set. 2020.

LIU, X. et al. Interleukin-4 Is Essential for Microglia/Macrophage M2 Polarization and Long-Term Recovery after Cerebral Ischemia. **Stroke**, v. 47, n. 2, p. 498–504, 1 fev. 2016.

LOCATELLI, M. C.; FURLANETO, A. F.; CATTANEO, T. N. Perfil epidemiológico dos pacientes com acidente vascular cerebral isquêmico atendidos em um hospital. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd**, p. 150–154, 2017.

MAGALHÃES, A. DE S. Perfil de exossomos periféricos nas fases aguda e crônica do acidente vascular encefálico. **Repositório Digital da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, p. 78, 2016.

MAMED, S. N. et al. Profile of deaths from unspecified stroke after investigation of garbage codes in 60 cities in Brazil, 2017. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, 2019.

MOROTTI, A.; GOLDSTEIN, J. N. **Diagnosis and Management of Acute Intracerebral Hemorrhage** *Emergency Medicine Clinics of North America* NIH Public Access, , 1 nov. 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC5089075/>. Acesso em: 2 out. 2021

NAKIRI, G. S. Experiência da trombectomia mecânica no tratamento do acidente vascular cerebral agudo em um hospital universitário brasileiro. **Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo**, p. 110, 2018.

NIKOLIC, D. et al. **Genetic aspects of inflammation and immune response in stroke** *International Journal of Molecular Sciences* MDPI AG, , out. 2020.

PAIVA, C. E. Q. et al. Relevância do Cuidado Farmacêutico ao Paciente Idoso com Consequências de Ave. **Mostra Científica do Curso de Farmácia - Centro Universitário Católica de Quixadá**, v. 3, 2016.

PARK, H. J. et al. Association between interleukin-4 gene polymorphisms and intracerebral haemorrhage in Korean population. **International Journal of Immunogenetics**, v. 38, n. 4, p. 321–325, 2011.

ROCHA, A. P. et al. Polimorfismos genéticos: implicações na patogênese do carcinoma medular de tireóide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 5, p. 723–730, 2007.

ROLIM, Â. M. et al. Statistical association of rs2243250 polymorphism of IL4 gene and hemorrhagic stroke in Brazilian population. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, p. 1–4, 2020.

SANCHES, B. C. H. **Estilo de vida, polifarmácia e interações medicamentosas em pacientes adultos/idosos com alteração de linguagem pós acidente vascular cerebral**. Bauru: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, nov. 2019.

SANTOS, E. F. DE S. Desfechos epidemiológicos e fatores associados à doença cerebrovascular em adultos jovens , estado de São Paulo , Brasil. **Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo**, mar. 2019.

SANTOS, J. C. M. et al. Association of the CHGA gene polymorphism in patients with hemorrhagic stroke and/or aneurysm. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, n. 1, p. 1–6, 1 jan. 2020.

SANTOS, L. B.; WATERS, C. Perfil epidemiológico dos pacientes acometidos por acidente vascular cerebral: revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 2749–2775, jan. 2020.

TAYLOR, R. A. et al. TGF- $\beta$ 1 modulates microglial phenotype and promotes recovery after intracerebral hemorrhage. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 280–292, jan. 2017.

TSCHOE, C. et al. **Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets** *Journal of Stroke* Korean Stroke Society, , 1 jan. 2020. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7005353/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33811113/). Acesso em: 2 out. 2021

TURCHETTO-ZOLET, A.C. et al. Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP): metodologia de identificação, análise e aplicações. *In*: TURCHETTO-ZOLET, A.C. et al. **Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações**. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, 2017. p. 132-179.

VICTORIA, E. C. G. **Aspectos Clínicos, patológicos e inflamatórios durante a isquemia e reperfusão encefálica em camundongos**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, nov. 2018.

VIEIRA, T. M. DE F. **Conectividade das redes neurais após Acidente Vascular Encefálico (AVC) e na recuperação dos déficits sensoriomotores: revisão de literatura**. [s.l.] Repositório Institucional da Universidade Federal de Minas Gerais, jun. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. As 10 principais causas de morte no mundo. 2020.

YE, L.; GAO, L.; CHENG, H. **Inflammatory Profiles of the Interleukin Family and Network in Cerebral Hemorrhage** *Cellular and Molecular Neurobiology* Springer New York LLC, , out. 2018.

## 5. Artigo

**Título:** Associação do polimorfismo *IL4* e característica clínica em uma amostra de acidente vascular encefálico hemorrágico

**Autores:** Geiza Carneiro Torres<sup>1</sup>, Gabriel Moura Alves Seixas<sup>1</sup>, Izabel Cristina Rodrigues da Silva<sup>1</sup>

### **Afiliações:**

1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, Distrito Federal, Brasil.

### **\*Autor Correspondente:**

Professora Doutora Izabel Cristina Rodrigues da Silva

E-mail: belbiomedica@gmail.com

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

## Resumo

**INTRODUÇÃO:** O acidente vascular encefálico (AVE) origina-se através de obstrução (AVE isquêmico) ou rompimento (AVE hemorrágico) de vasos sanguíneos do cérebro, causando a interrupção do fluxo sanguíneo em determinada região encefálica, sendo um evento agudo, que persiste por 24 horas e ocasiona perda repentina da função neurológica.

**OBJETIVO:** investigar a associação entre o polimorfismo do tipo VNTR, do gene IL4, localizado na região do intron 3, em pacientes diagnosticados com acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) ou aneurisma intracerebral em uma amostra do Distrito Federal.

**MATERIAL E MÉTODO:** Tratou-se de um estudo observacional, retrospectivo, transversal, com 55 indivíduos, dos quais foram anotadas as características clínicas do prontuário e realizada análise da genotipagem por meio da estratégia de PCR. As frequências genotípicas foram estimadas por contagem direta. O nível de significância adotado foi de 5% e o teste estatístico utilizado foi o Qui-Quadrado.

**RESULTADOS:** Foi verificado que o genótipo mais frequente foi o B1/B2 (50,9%; n=28), seguido do seguido pelo genótipo ancestral B1/B1 (27,3%, N=15), sendo que o menos frequente foi o genótipo B2/B2 (21,8%, N=12). Não foi encontrada associação estatística entre as variáveis hipertensão arterial sistêmica, diabetes, tabagismo e etilismo e a presença do polimorfismo no grupo estudado.

**CONCLUSÃO:** A presença do polimorfismo IL4 INTRON 3 VNTR teve associação com a variável sexo, demonstrando que na amostra estudada, o AVEH é mais frequente em mulheres do que em homens, divergindo de estudos no quais indivíduos do sexo masculino são mais propensos a desenvolverem AVE.

**PALAVRAS-CHAVE:** Polimorfismo. Interleucina-4. AVE.

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Stroke originates through obstruction (ischemic stroke) or rupture (hemorrhagic stroke) of blood vessels in the brain, causing interruption of blood flow in a certain brain region, being an acute event that persists for 24 hours and causes sudden loss of neurological function.

**OBJECTIVE:** to investigate the association between the VNTR-type polymorphism of the *IL4* gene, located in the region of intron 3, in patients diagnosed with hemorrhagic stroke or intracerebral aneurysm in a sample from the Distrito Federal.

**MATERIAL AND METHOD:** This was an observational, retrospective, cross-sectional study, with 55 individuals, whose clinical characteristics were recorded and the genotyping analysis was performed using the PCR strategy. Genotypic frequencies were estimated by direct counting. The significance level adopted was 5% and the statistical test used was the Chi-Square.

**RESULTS:** It was found that the most frequent genotype was B1/B2 (50.9%; n=28), followed by the ancestral genotype B1/B1 (27.3%, N=15), with the least frequent was the genotype B2/B2 (21.8%, N=12). There was no statistical association between the variables systemic arterial hypertension, diabetes, smoking and alcohol consumption and the presence of polymorphism in the studied group.

**CONCLUSION:** The presence of the IL4 INTRON 3 VNTR polymorphism was associated with the gender variable, demonstrating that in the studied sample, hemorrhagic stroke is more frequent in women than in men, diverging from studies in which males are more likely to develop stroke.

**KEYWORDS:** Polymorphism. Interleukin-4. stroke.

## 5.1 Introdução

O acidente vascular encefálico (AVE) origina-se através de obstrução (AVE isquêmico) ou rompimento (AVE hemorrágico) de vasos sanguíneos do cérebro<sup>(1)</sup>, causando a interrupção do fluxo sanguíneo em determinada região encefálica<sup>(2-5)</sup>, sendo um evento agudo<sup>(6)</sup>, que persiste por 24 horas<sup>(2,3,5)</sup> e ocasiona perda repentina da função neurológica<sup>(7)</sup>.

O AVE classifica-se em isquêmico ou hemorrágico, sendo o primeiro responsável por 80-85% dos casos e o segundo por 15%<sup>(8,9)</sup>. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2019 o acidente vascular encefálico foi a segunda maior causa de morte no mundo, responsável por aproximadamente 11% das 55,4 milhões de mortes que ocorreram globalmente<sup>(10)</sup>.

Durante um AVE isquêmico, são liberadas várias substâncias do núcleo isquêmico para a área de penumbra<sup>(11)</sup>. Essas substâncias podem ativar a micróglia e desencadear respostas pró-inflamatórias (fenótipo M1) ou respostas anti-inflamatórias (fenótipo M2)<sup>(12)</sup>.

Uma dessas substâncias é a interleucina-4 (IL-4), citocina secretada por células T, sendo responsável por sua diferenciação, a qual também está envolvida no processo de reparo tecidual<sup>(13,14)</sup>. A IL-4 polariza os macrófagos em direção ao fenótipo M2, o que contribui para redução de lesões tanto no AVE isquêmico quanto no hemorrágico<sup>(11)</sup>.

O gene que codifica a IL-4 está localizado na região cromossômica 5q31.1<sup>(15)</sup>. Esse gene possui um polimorfismo no íntron 3, do tipo VNTR de 70pb, que pode influenciar a expressão desta citocina e o risco de acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH)<sup>(16,17)</sup>. Esse polimorfismo possui os alelos B1 (duas repetições), e B2 (três repetições). O alelo B2 pode estar mais relacionado com a diminuição da expressão de IL-4<sup>(17,18)</sup>.

Nesse contexto, este estudo teve por objetivo investigar a associação entre o polimorfismo do tipo VNTR, do gene *IL4*, localizado na região do intron 3, em pacientes diagnosticados com acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) ou aneurisma intracerebral em uma amostra do Distrito Federal.



## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Participantes

Foi feito um estudo observacional, retrospectivo, transversal com 55 pacientes. Os participantes recrutados fizeram parte de um estudo caso-controle realizado entre os anos de 2011 e 2012, em um hospital do Distrito Federal, Brasil. Na amostra estudada havia 38 mulheres e 17 homens.

Os participantes deste estudo tinham acima de cinquenta anos de idade, tinham o diagnóstico de AVEH, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), que foi confirmado através de exames de imagem: Tomografia Computadorizada (TC) e Ressonância Magnética (RM). Os pacientes sem diagnóstico e com idade inferior a 50 anos foram excluídos deste estudo.

Foram anotadas as características clínicas dos pacientes e a partir disso foram obtidas informações como diagnóstico de hipertensão ou diabetes, e hábitos de vida como tabagismo e uso de álcool. A fim de avaliar a recuperação dos pacientes, foi utilizada a Escala de Rankin Modificada (ERM)<sup>(17)</sup>.

As amostras obtidas dos pacientes foram processadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília (UnB), Brasil.

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (CEP – FEPECS), sendo aprovado sob o número 95/2010. Antes da realização do estudo foi obtido o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) de cada participante.

### 5.2.2 Procedimentos

Foram coletados 5mL de sangue venoso de cada paciente, de onde foi feita a extração de DNA, com o Mini Kit PureLink® Genomic DNA, da empresa Invitrogen (catálogo #K1820-02, lote #19339891). As concentrações de DNA foram obtidas a partir de espectrofotometria (equipamento NanoDrop®, da empresa Thermo Fisher Scientific Inc.).

O DNA obtido foi analisado por meio da estratégia de reação em cadeia da polimerase (PCR), para a realização da genotipagem. Foram utilizados 4,0µL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/µL; 12,5µL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 3,8µL de MgCl<sub>2</sub> 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10µL de desoxirribonucleotídeo trifosfato (dNTPs) 2,5mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 2µL de Taq-Polimerase 10U/µL (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 5µL de cada oligonucleotídeo (10µM, IDT technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25µL por reação.

Os oligonucleotídeos utilizados para amplificar a sequência de interesse do polimorfismo do gene *IL4* VNTR íntron 3 70pb foram 5'-AGGCTGAAAGGGGGAAAGC-3' forward e 5'-CTGTTACCTCAACTGCTCC-3' reverse. A amplificação do fragmento estudado foi realizada através do termociclador programado da seguinte maneira: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 20 segundos, anelamento a 58°C por 20 segundos, extensão a 72°C por 20 segundos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos da PCR foram submetidos a corrida eletroforética em gel de agarose 3% com brometo de etídio por 1 hora a 80W. Após a corrida, os fragmentos foram visualizados em um transluminador (L-PIX Touch) com fonte ultravioleta, e a frequência genotípica foi feita através de contagem direta dos amplicons. As bandas de 183 pb foram definidas como genótipo B1/B1, as bandas de 253 pb foram definidas como genótipo B2/B2 e as bandas que possuíam ambas, 183 pb e 253 pb, foram definidas como genótipo B2/B2.

### 5.2.3 Análise Estatística

Após os resultados das PCRs, foi feita a análise estatística dos dados utilizando o programa estatístico SPSS versão 25.0, a qual tem por objetivo comparar o genótipo e as características clínicas dos pacientes. O nível de significância adotado foi de 5%, e o teste estatístico executado para as análises de associação foi o qui-quadrado.

### 5.3 Resultados e Discussão

Na amostra estudada foram encontrados os alelos B1 (duas repetições de 70 pb) e B2 (três repetições de 70 pb). Após a análise estatística das amostras, verificou-se que o genótipo mais frequente foi B1/B2 (50,9%, N=28), seguido pelo genótipo ancestral

B1/B1 (27,3%, N=15), sendo que o menos frequente foi o genótipo B2/B2 (21,8%, N=12), como mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição do genótipo de *IL4* INTRON 3 VNTR entre os pacientes portadores de AVE.

|            |       | N  | %    |
|------------|-------|----|------|
| <i>IL4</i> | B1/B1 | 15 | 27,3 |
|            | B1/B2 | 28 | 50,9 |
|            | B2/B2 | 12 | 21,8 |

*IL4* = gene; B1/B1, B1/B2, B2/B2 = genótipos; N = número de pacientes que correspondem aos diferentes genótipos; % = porcentagem de pacientes que correspondem aos diferentes genótipos.

A partir da análise dos dados apresentados na Tabela 2, entre os diferentes genótipos, foi demonstrado que não houve associação estatística entre as variáveis HAS (hipertensão arterial sistêmica) ( $p=0,505$ ), diabetes ( $p=0,545$ ), tabagismo ( $p=0,875$ ) e etilismo ( $p=0,725$ ).

Houve associação entre a distribuição genotípica e a variável sexo na amostra estudada ( $p=0,039$ ), porém isso não influenciou no prognóstico de AVEH (MRS  $p=0,929$ ).

**Tabela 2.** Distribuição dos genótipos de *IL4* INTRON 3 VNTR conforme as variáveis sexo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes, tabagismo, etilismo e Escala de Rankin Modificada (ERM) dos pacientes portadores de AVE.

|           |                  | <i>IL4</i> |       |       |      |       |      | P      |
|-----------|------------------|------------|-------|-------|------|-------|------|--------|
|           |                  | B1/B1      |       | B1/B2 |      | B2/B2 |      |        |
|           |                  | N          | %     | N     | %    | N     | %    |        |
| Sexo      | feminino         | 7          | 46,7  | 20    | 71,4 | 11    | 91,7 | 0,039* |
|           | masculino        | 8          | 53,3  | 8     | 28,6 | 1     | 8,3  |        |
| HAS       | sim              | 14         | 93,3  | 23    | 82,1 | 11    | 91,7 | 0,505  |
|           | não              | 1          | 6,7   | 5     | 17,9 | 1     | 8,3  |        |
| Diabetes  | sim              | 0          | 0,0   | 2     | 7,1  | 1     | 8,3  | 0,545  |
|           | não              | 15         | 100,0 | 26    | 92,9 | 11    | 91,7 |        |
| Tabagismo | sim              | 4          | 26,7  | 9     | 32,1 | 3     | 25,0 | 0,875  |
|           | não              | 11         | 73,3  | 19    | 67,9 | 9     | 75,0 |        |
| Etilismo  | sim              | 4          | 26,7  | 8     | 28,6 | 2     | 16,7 | 0,725  |
|           | não              | 11         | 73,3  | 20    | 71,4 | 10    | 83,3 |        |
| ERM       | prognóstico ruim | 2          | 13,3  | 5     | 17,9 | 2     | 16,7 | 0,929  |
|           | bom prognóstico  | 13         | 86,7  | 23    | 82,1 | 10    | 83,3 |        |

\* P <0,05; Teste do Qui-Quadrado. *IL4* = gene; B1/B1, B2/B2 e B1/B2 = genótipos; N = número de pacientes correspondentes aos genótipos; % = porcentagem de pacientes correspondentes aos genótipos.

A associação estatística entre a variável sexo e o polimorfismo de *IL4* na amostra estudada é considerada um novo achado em relação a estudos já existentes.

Em um estudo realizado no Hospital de Base de São José do Rio Preto, São Paulo, os autores observaram que entre os prontuários analisados houve maior prevalência de

AVE em indivíduos do sexo masculino (56,04%) do que no sexo feminino (43,96%)<sup>(19)</sup>.

Um estudo transversal feito com 223 pacientes diagnosticados com AVE, que foram atendidos em um hospital de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, no período de janeiro a junho de 2015 demonstrou que a maior parte de indivíduos acometidos eram homens (123 pacientes - 55%), numa faixa etária de 33 a 93 anos, onde a idade média desses indivíduos era de 64,3 anos<sup>(20)</sup>.

Indivíduos do sexo masculino, abaixo de 85 anos, são os mais acometidos por AVE. Este fato tem ligação também com a preexistência de hipertensão arterial sistêmica, que é mais prevalente em homens de até 50 anos. Acima dos 70 anos, as mulheres passam a ser mais propensas a desenvolverem AVE, devido a fatores hormonais (menopausa)<sup>(21)</sup>.

Os polimorfismos genéticos podem alterar o perfil de liberação de citocinas, e o polimorfismo do gene *IL4* intron 3 VNTR pode ser um dos responsáveis por alterar a liberação de IL-4<sup>(22)</sup>. Esse polimorfismo possui os alelos B1 (duas repetições) e B2 (três repetições). O alelo B2 pode estar mais relacionado com a diminuição da expressão de IL-4<sup>(16,18)</sup>.

Estudos anteriores demonstraram que a interleucina-4 é capaz modular a resposta imunológica e polarizar a micróglia para o fenótipo M2, que associa-se ao reparo tecidual e a liberação de citocinas anti-inflamatórias, o que seria benéfico tanto na recuperação de AVE isquêmico quanto de AVEH<sup>(23-25)</sup>.

Em um estudo com camundongos, Zhao et al. (2015) obtiveram resultados positivos na recuperação desses animais após acidente vascular encefálico isquêmico. A administração de IL-4 resultou em uma redução da lesão isquêmica e influenciou positivamente na recuperação neurológica desses animais, além de induzir a polarização da micróglia para o fenótipo M2, que é capaz de reduzir a inflamação e relaciona-se ao reparo tecidual<sup>(23,24)</sup>.

Yang et al. (2016) induziram hemorragia intracerebral, um dos tipos de AVEH, em ratos Sprague Dawley para testar qual seria o efeito da injeção de IL-4 na polarização da micróglia e na resposta imunológica ao dano causado. Os resultados demonstraram que a

administração de IL-4 foi capaz de induzir a polarização da micróglia ao fenótipo M2, além de melhorar a resposta anti-inflamatória e conseqüentemente, a recuperação do rato após hemorragia intracerebral. Porém ressaltaram que mais estudos precisam ser feitos a fim de encontrar a dose ideal e qual o melhor momento para administração de IL-4, se na fase inicial ou final do AVEH.

Rolim *et al.* (2020) estudaram o polimorfismo rs2243250 de nucleotídeo único (SNP), o qual apresentava dois alelos, C e T, que se relacionaram com o risco de desenvolver AVEH. Na análise dos dados a variação alélica de C e T não se relacionou com os fatores de risco para AVEH, nem houve associação estatística entre o prognóstico de AVEH e a frequência alélica do polimorfismo estudado.

Park *et al.* (2011) estudaram dois polimorfismos SNPs de *IL4*, rs2070874 e rs2243250, encontrando os genótipos CC, TT e TC. O alelo C associava-se com a redução do risco para AVE e o alelo T relacionava-se ao aumento da expressão de IL-4, existindo associação estatística entre esses polimorfismos e o AVEH. Porém, no mesmo estudo, apontaram como limitação a amostra utilizada e sugeriram que mais estudos precisam ser realizados a fim de elucidar qual o papel da IL-4 no AVEH.

## 5.4 Conclusão

Existem poucos estudos demonstrando a relação entre a interleucina-4 e o AVEH pois em sua maioria, a IL-4 está relacionada ao AVEI. Este estudo mostrou que a presença do polimorfismo IL4 INTRON 3 VNTR teve associação com a variável sexo, demonstrando que na amostra estudada, o AVEH é mais frequente em mulheres do que em homens, divergindo de estudos no quais indivíduos do sexo masculino são propensos a desenvolver AVE.

Em relação às demais características clínicas de acidente vascular encefálico hemorrágico (hipertensão arterial sistêmica, diabetes, etilismo, tabagismo e prognóstico), nenhuma associação estatística foi encontrada.

Para compreender melhor o papel deste polimorfismo na população estudada, são necessários mais estudos detalhados, avaliando outras características dos pacientes, como perfis lipídico, inflamatório e bioquímico, e análise dos prontuários.

## Referências

1. Farias FNQ, Almeida MA de. Características epidemiológicas, clínicas e tratamento ofertado a jovens com acidente vascular cerebral. Saúde St Maria [Internet]. 16 de abril de 2019 [citado 9 de novembro de 2021];45(1). Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistasaude/article/view/36001>
2. Brasil. Diretrizes de atenção à reabilitação da pessoa com acidente vascular cerebral. 2013;74.
3. Magalhães A de S. Perfil de exossomos periféricos nas fases aguda e crônica do acidente vascular encefálico. 2016 [citado 9 de novembro de 2021]; Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/153213>
4. Paiva CEQ, Santos SLF dos, Almeida R de O, Melo MM de A, Arraes MLB de M. RELEVÂNCIA DO CUIDADO FARMACÊUTICO AO PACIENTE IDOSO COM CONSEQUÊNCIAS DE AVE. Most Científica Farmácia [Internet]. 10 de julho de 2017 [citado 9 de novembro de 2021];3(1). Disponível em: <http://reservas.fcrcs.edu.br/index.php/mostracientificafarmacia/article/view/1267>
5. Santos EF de S. Desfechos epidemiológicos e fatores associados à doença cerebrovascular em adultos jovens, estado de São Paulo, Brasil [Internet] [text]. Universidade de São Paulo; 2019 [citado 9 de novembro de 2021]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6141/tde-27032019-143731/>
6. Mamed SN, Ramos AM de O, Araújo VEM de, Jesus WS de, Ishitani LH, França EB. Profile of deaths from unspecified stroke after investigation of garbage codes in 60 cities in Brazil, 2017. Rev Bras Epidemiol Braz J Epidemiol. 2019;22Suppl 3(Suppl 3):e190013.supl.3.
7. Lima A de GT, Petribú KCL de. Acidente vascular encefálico: revisão sistemática sobre qualidade de vida e sobrecarga de cuidadores. Rev Bras Neurol E Psiquiatr [Internet]. 2016 [citado 9 de novembro de 2021];20(3). Disponível em:

<https://www.revneuropsiq.com.br/rbnp/article/view/168>

8. Alves CL, Santana DS de, Aoyama E de A. ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM ADULTOS JOVENS COM ÊNFASE NOS FATORES DE RISCO. Rev Bras Interdiscip Saúde [Internet]. 10 de janeiro de 2020 [citado 9 de novembro de 2021]; Disponível em: <https://revistarebis.rebis.com.br/index.php/rebis/article/view/61>
9. Santos LB dos, Waters C. Perfil epidemiológico dos pacientes acometidos por acidente vascular cerebral: revisão integrativa/ Perfil epidemiológico de pacientes con accidente cerebrovascular: una revisión integradora. Braz J Dev. 17 de janeiro de 2020;6(1):2749–75.
10. WorldHealth Organization. The top 10 causes of death [Internet]. 2020 [citado 9 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
11. Zhao X, Wang H, Sun G, Zhang J, Edwards NJ, Aronowski J. Neuronal Interleukin-4 as a Modulator of Microglial Pathways and Ischemic Brain Damage. J Neurosci. 12 de agosto de 2015;35(32):11281.
12. Illes P, Rubini P, Ulrich H, Zhao Y, Tang Y. Regulation of Microglial Functions by Purinergic Mechanisms in the Healthy and Diseased CNS. Cells. 29 de abril de 2020;9(5):E1108.
13. Liu X, Liu J, Zhao S, Zhang H, Cai W, Cai M, et al. Interleukin-4 Is Essential for Microglia/Macrophage M2 Polarization and Long-Term Recovery After Cerebral Ischemia. Stroke. fevereiro de 2016;47(2):498–504.
14. Yang J, Ding S, Huang W, Hu J, Huang S, Zhang Y, et al. Interleukin-4 Ameliorates the Functional Recovery of Intracerebral Hemorrhage Through the Alternative Activation of Microglia/Macrophage. Front Neurosci. 2016;10:61.
15. IL4 interleukin 4 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [citado 9 de



novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3565>

16. Barros AR, Souza JN, Sobrinho AB, Moraes RM de, Oliveira JR, Silva ICR da. Associação entre polimorfismos de citocinas inflamatórias com o carcinoma papilífero de tireóide. *Rev Divulg Científica Sena Aires*. 20 de dezembro de 2019;9(1):13–23.
17. Rolim ÂM, Borges FSA, Barros AR, Lima JD, Silva FBA, Souza HC de, et al. Associação estatística entre o polimorfismo rs2243250 no gene da *IL-4* e o AVC hemorrágico na população brasileira. *J Bras Patol E Med Lab [Internet]*. 29 de maio de 2020 [citado 9 de novembro de 2021];56. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/jbpml/a/GGG8sTKPrKFJtJhDqStn9Jr/?lang=pt>
18. AL-Eitan LN, Rababa'h DM, Alghamdi MA, Khasawneh RH. <p>The influence of an<em> IL-4</em> variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism on breast cancer susceptibility</p>. *Pharmacogenomics Pers Med*. 26 de agosto de 2019;12:201–7.
19. Silva RG da, Cobo DL, Foss MHDA, Vale ME do, Cavenaghi S. Perfil epidemiológico da unidade de AVC em um hospital de ensino / Epidemiological profile of the stroke unit in a teaching hospital. *Braz J Health Rev*. 13 de outubro de 2021;4(5):22023–30.
20. Mourao AM, Vicente LCC, Chaves TS, Sant`Anna RV, Meira F de C, Xavier RM de B, et al. Perfil dos pacientes com diagnóstico de AVC atendidos em um hospital de Minas Gerais credenciado na linha de cuidados. *Rev Bras Neurol*. 2017;12–6.
21. Rodrigues M de S, Santana LF e, Galvão IM. Fatores de risco modificáveis e não modificáveis do AVC isquêmico: uma abordagem descritiva. *Rev Med*. 29 de setembro de 2017;96(3):187–92.
22. Elghoroury EA, Fadel FI, Farouk H, Elshamaa MF, Kamel S, Kandil D, et al. Association of variable number tandem repeats polymorphism in the *IL-4* gene with end-stage renal disease in children. *Egypt J Med Hum Genet*. 5 de julho de

2018;19(3):191–5.

23. Ye L, Gao L, Cheng H. Inflammatory Profiles of the Interleukin Family and Network in Cerebral Hemorrhage. *Cell Mol Neurobiol.* outubro de 2018;38(7):1321–33.
24. Nikolic D, Jankovic M, Petrovic B, Novakovic I. Genetic Aspects of Inflammation and Immune Response in Stroke. *Int J Mol Sci.* janeiro de 2020;21(19):7409.
25. Lan X, Han X, Li Q, Yang Q-W, Wang J. Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage. *Nat Rev Neurol.* julho de 2017;13(7):420–33.
26. Park HJ, Kim MJ, Kang SW, Kim SK, Lee JS, Park HK, et al. Association between interleukin-4 gene polymorphisms and intracerebral haemorrhage in Korean population. *Int J Immunogenet.* 1º de agosto de 2011;38(4):321–5.

## 6. Anexos

## ANEXO A - PARECER DO 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: cepesd@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**

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

#### Polimorfismo 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 5 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 5 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 DOS PARTICIPANTES DA PESQUISA**

### Termo de Guarda de Material Biológico – Indivíduos “saudáveis”

Este documento é chamado de 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 de 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, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, 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 - NORMAS DO PERIÓDICO**

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado na Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, de atualização, experimentais, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado apenas em inglês, com resumo em português ou espanhol.

### **TAXA DE PUBLICAÇÃO**

O JBPML tem mais de 71 anos de história. Desde 1950, com pausas mínimas na publicação, a revista se compromete a publicar artigos de excelência na área médica diagnóstica. Para que possamos dar continuidade ao trabalho que temos executado com tanta dedicação, a partir de 2021, passaremos a cobrar uma taxa de publicação dos artigos no valor de R\$ 500,00 (quinhentos reais). O processo será realizado por meio do Contrato de Licença de Uso Oneroso de Obra – enviado ao autor após a aprovação final do artigo –, juntamente com as instruções para pagamento da taxa de publicação.

### **ANÁLISE DOS TRABALHOS**

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

## **ÉTICA**

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Quando pertinente, o trabalho enviado deverá ser acompanhado de cópia do comprovante de aprovação por um Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (exceto dados de domínio público).

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

As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão.

Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

## **RESPONSABILIDADE DA AUTORIA E CONFLITO DE INTERESSES**

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

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

## **TITULAÇÃO**

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

## **RESUMOS E UNITERMOS**

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

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

## **AGRADECIMENTOS**

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

## **ESTRUTURA DO TEXTO**

### **Artigos originais**

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir.

### **REFERÊNCIAS**

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. (links para pesquisa: 1. <https://usp.br/sddarquivos/arquivos/vancouver.pdf>. 2. <http://www.abenmt.org.br/VancouverNormas-2017.pdf>. 3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>). Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das

referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

### **Exemplos:**

- **Artigos de periódicos (um só autor)**

Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.

- **Artigos de periódicos (até seis autores)**

Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.

- **Artigos de periódicos (mais de seis autores)**

Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-*H. pylori* antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.

- **Artigo de periódico on-line**

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.

- **Livros no todo (dois autores)**



Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

- **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor**

Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

- **Parte de livro em meio eletrônico**

São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

- **Evento em meio eletrônico**

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

- **Tese ou dissertação**

Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

- **Citações no texto**

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

## **TABELAS E FIGURAS**

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas com as figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png.

## **ABREVIÇÕES E NOMES DE MEDICAMENTOS**

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.