



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

GABRIEL MOURA ALVES SEIXAS

**FREQUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE *IL10* EM PACIENTES COM
DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS.**

BRASÍLIA, 2019

GABRIEL MOURA ALVES SEIXAS

**FREQUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE *IL10* EM PACIENTES COM
DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS.**

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

Orientadora: : Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
Co-orientadora: MSc. Lorena Aparecida Gonçalves de Noronha

BRASÍLIA, 2019

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

SSE462f Seixas, Gabriel Moura Alves
Frequência do Polimorfismo do Gene IL10 em Pacientes com Doenças Crônicas Não Transmissíveis. / Gabriel Moura Alves Seixas; orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva; co orientador Lorena Aparecida Gonçalves Noronha. -- Brasília, 2019.
45 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. Polimorfismo Genético. 2. IL10 - 592. 3. Doenças Crônicas Não Transmissíveis. 4. Síndrome Metabólica. I. da Silva, Izabel Cristina Rodrigues , orient. II. Noronha, Lorena Aparecida Gonçalves , co-orient. III. Título.

GABRIEL MOURA ALVES SEIXAS

**FREQUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE *IL10* EM PACIENTES COM
DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS.**

BANCA EXAMINADORA

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

Co-Orientadora: MSc. Lorena Aparecida Gonçalves de Noronha
(Universidade de Brasília - FCE)

Renata de Souza Freitas
(Universidade Católica de Brasília - UCB)

Lígia Canongia de Abreu Cardoso
(Centro Universitário Planalto do Distrito Federal - UNIPLAN)

BRASÍLIA, 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por tudo, pois tudo vem Dele e tudo volta para Ele. Por me conceder saúde e todos os dias me capacitar para superar os desafios.

Aos meus pais Ednacy Seixas e Anísio Seixas, agradeço a educação que moldou meu caráter, além de toda dedicação, amor, carinho, suporte e apoio que foram determinantes para que eu chegasse até aqui.

Agradeço a minha querida irmã Juliana Seixas por toda amizade, amor, preocupação e por estar sempre a disposição para ajudar no que fosse preciso.

Agradeço também aos amigos que fiz na faculdade, em especial Isaque Madureira, Kamila Nogueira e Ana Caroline sem vocês, a faculdade não teria sido a mesma, obrigado pelo companheirismo e por compartilharem e superarem comigo os desafios da graduação.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva e Co-orientadora, MSc. Lorena Aparecida Gonçalves de Noronha, agradeço a confiança, paciência, atenção, encorajamento e orientação para que o presente trabalho fosse concluído. Pessoas a quem tenho profunda admiração, respeito e gratidão.

Ao grupo de Pesquisa GPSen pela elaboração do projeto e obtenção das amostras, além de permitir condições para análise. Também neste sentido, agradeço a FAPDF e ao CNPq pelo fomento da pesquisa.

As Biomédicas Renata de Souza Freitas e Lígia Canongia de Abreu Cardoso por aceitarem o convite para compor a banca de avaliação do presente trabalho.

Por fim, a todos os Professores da Universidade de Brasília, colegas de Laboratório e preceptores de estágio que fizeram parte da minha vida acadêmica e me auxiliaram a construir cada degrau na longa caminhada da graduação.

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos” Provérbios 16:3

Sumário

1	INTRODUÇÃO COM REVISÃO DE LITERATURA E JUSTIFICATIVA	10
1.1	Síndrome Metabólica	10
1.1.1	Definição.....	10
1.1.2	Epidemiologia.....	12
1.1.3	Patogênese	13
1.1.4	Interleucina 10.....	14
1.1.5	Interleucina 10 e Síndrome Metabólica.....	15
1.2	Justificativa	17
2	OBJETIVOS	18
3	REFERÊNCIAS.....	19
4	ARTIGO	23
	RESUMO	24
	ABSTRACT.....	25
4.1	Introdução.....	26
4.2	Materiais e Métodos	27
4.3	Resultados e Discussão.....	29
4.4	Conclusão	31
4.5	Referências.....	31
5	ANEXOS.....	33
	ANEXO A - CADASTRO SIGEN.....	33
	ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA (DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS – SÍNDROME METABÓLICA).....	35
	ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE	37
	ANEXO D - Termo de Guarda de Material Biológico.....	39
	ANEXO E – Ficha de Identificação.....	41

Lista de tabelas

Tabela 1: Critérios da Organização Mundial da Saúde, *Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults* e *International Diabetes Federation* para diagnóstico da síndrome metabólica.----- 9

Lista de gráfico

Gráfico 1: Níveis de expressão sérica de citocina IL-10 conforme o genótipo -592 IL10. ----- 28

1 INTRODUÇÃO COM REVISÃO DE LITERATURA E JUSTIFICATIVA

Atualmente, o perfil de mortalidade dos seres humanos vem tendo uma transformação expressiva, no que tange as características das doenças. O termo transição epidemiológica é uma realidade no século XXI, pois constitui na mudança das principais causas de morbidade e mortalidade, que antigamente era basicamente por doenças infectocontagiosas, hoje em dia se dá por doenças degenerativas e aquelas provocadas pelo comportamento humano (BORGES, GM 2017).

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) tornaram-se um sinal de alerta para os órgãos de saúde e seus gestores em todo o mundo. Estes agravos são agentes de mais 30 milhões de mortes em todo o mundo totalizando quase que 70% dos falecimentos anuais. Neste grupo se encontra as doenças (MALTA, DC 2016).

1.1 Síndrome Metabólica

1.1.1 Definição

A síndrome X, ou como é popularmente conhecida, Síndrome Metabólica (SM), uma doença complexa e crônica, que sofre influência genética e ambiental. Consiste em um apanhado de fatores plurimetabólicos, que promove uma desordem no organismo, capaz de provocar alteração cardiovascular aterosclerótica (ASCVD) precoce, e um provável desenvolvimento de diabetes mellitus. Para tanto, indicadores como dislipidemia aterogênica, pressão arterial elevada, disglicemia ou alteração na glicemia, junto com resistência a insulina que é caracterizada também pela ocorrência de hipertensão e obesidade visceral, estado pré-trombótico e um estado pró-inflamatório, vai delinear a patologia (Grundy, SM et al 2016)

Na proposta da OMS em definir a SM existia a obrigatoriedade de ter diabetes, junto com o que a rodeia, como resistência insulínica e anormalidades na absorção de glicose ou uma elevação, em jejum, do valor da glicemia para firmar o critério diagnóstico. A justificativa destes acontecimentos deve-se a semelhança do

mecanismo patológico que acomete o aumento da glicemia e concomitante modificação no metabolismo dos lipídeos, decorrendo em problemas hormonais sendo visualizada pelo fenótipo obeso, o que proporciona no acometimento de doenças cardiovasculares (Grundy, SM et al 2016).

Avaliar a resistência insulínica ou desordem da biotransformação da glicose, fez com que a Primeira Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM), percebesse inadequações para a definição proposta pela a OMS. Tendo então como parâmetros de definição ligados ao desequilíbrio na tolerância à glicose ou resistência, mais os parâmetros ligados a pressão arterial sistêmica e/ou uso de anti-hipertensivos, aumento dos triglicerídeos séricos, com ou sem a diminuição do HDL colesterol, relação cintura/quadril alterada, com ou sem o índice de massa corpórea (IMC) e micro albuminúria (Azambuja, CR. Et al 2015).

O NCEP-ATP III de 2001 (*Third Reporto of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*) tabela 1, criado para a prática clinica não requer a comprovação da resistência insulínica, sendo assim mais usual. Por tanto neste instituto pega-se como base os parâmetros: obesidade vista por meio da circunferência abdominal, o aumento da pressão arterial, a glicemia em jejum superior a 100mg/dL, aumento dos triglicerídeos e níveis baixos de HDL colesterol, a junção de pelo menos três desses o paciente pode ser diagnosticado com SM (Azambuja, CR. Et al 2015).

A Federação Internacional do Diabetes (IDF), tem como pré-requisito a obesidade central, o que está inserido para sua classificação a circunferência abdominal, tendo os valores baseados no grupo étnicos estudado, para diagnosticar a Síndrome. Triglicerídeo maior ou igual a 150 mg/dL (com ou sem tratamento medicamentoso para dislipidemia), Lipoproteína de alta densidade (HDL colesterol) menor que 40mg/dL em homens e 50mg/dL nas mulheres, aumento da pressão arterial maior ou igual a 130/85 mmHg fazendo uso ou não de medicamentos para o controle, e tendo um aumento da glicose sérica em jejum, consiste no quadro diagnostico para a definição da SM Azambuja, CR. Et al 2015).

Na clínica, a definição mais aceita da síndrome inclui achados bioquímicos e antropométricos. Os componentes-chaves são : o comprimento da circunferência abdominal, o aumento dos triglicerídeos, podendo ter um tratamento medicamentoso tornando um indicador alternativo, glicemia e pressão arterial, mais a redução do HDL

(lipoproteína de alta densidade), apresentando três ou mais forma um diagnóstico de doença cardíaca coronária (Grunndy, SM et al 2016).

Pessoas obesas são as mais propensas a desenvolverem este transtorno. Quando analisado os achados laboratoriais, encontra-se o aumento de triglicerídeos e apolipoproteína B tipificando a dislipidemia aterogênica. A constituição de pacientes pré-diabéticos e diabéticos determina o que se chama de disglícemia. As alterações trombóticas são visualizadas com coeficiente de coagulação que pode determinar um estado trombótico. Todos esses achados em conjunto provocam um risco aumentado de ASCVD (Grunndy, SM et al 2016).

1.1.2 Epidemiologia

No mundo a Síndrome Metabólica representa cerca de 30% dos habitantes, tendo uma taxa de mortalidade no mundo de aproximadamente 7%, e dentre os casos de mortalidade associados a Doenças Cardiovasculares (DCVs) consiste em 17% dos óbitos. (Lira Neto, JCG et al 2017)

Na população brasileira esses dados correspondem a aproximadamente de 18% a 30% dos habitantes são diagnosticado com SM (Moreno, E. et al 2015 , Calixto SCS et al 2016).

Sabe-se que conforme o paciente apresenta uma idade elevada os riscos associados com a doença tende a aumentar, pois os parâmetros como o de obesidade, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e as dislipidemias, são de grande relevância para a população idosa Moreno, E. et al 2015 , Calixto SCS et al 2016).

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

Fonte: Azambuja CR. et al 2015 – adaptado

	Entidades		
	OMS	NCEP-ATP III (2001)	IDF (2006)
SM diagnosticada segundo	resistência insulínica e a presença de mais dois fatores	presença de três fatores	circunferência abdominal alterada e presença de mais dois fatores
Obesidade	RCQ >0,9 em homens e >0,85 em mulheres e/ou IMC >30 kg/m ²	Cintura abdominal >102 cm em homens e >88 cm em mulheres	Cintura abdominal >94 cm em homens europeus, >90 cm em homens asiáticos >80 cm em mulheres
Glicose plasmática	Diabetes, intolerância glicídica ou resistência insulínica comprovada pelo clamp	≥110 mg/dL	≥100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes
Triglicerídeos	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia
HDL	<35 mg/dL em homens e <39 mg/dL em mulheres	<40 mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres	<40 mg/dL em homens ou <50 mg/dL em mulheres ou tratamento para dislipidemia
Pressão Arterial	PAS ≥140 mmHg ou PAD ≥90 mmHg, ou tratamento para HAS	PAS ≥130 mmHg ou PAD ≥85 mmHg	PAS ≥130 mmHg ou PAD ≥85 mmHg ou tratamento para HAS
Outros	Excreção urinária de albumina: ≥20 mcg ou relação albumina/creatinina: ≥30 mg/g		

1.1.3 Patogênese

A resistência insulínica constituía-se na proposta inicial para a causa de síndrome metabólica, por ter sua contribuição na hiperglicemia. Porém, a intencionalidade dela em causar outros fatores de risco metabólico é incerto. Outra

perspectiva traz a obesidade como causadora principal, pois se associa fortemente a todos os fatores de risco, o que torna plausível (Grunddy, SM et al 2016).

Algumas outras perspectivas apontam o balanço calórico positivo é o que mantém a síndrome metabólica. A obesidade é um indicador clínico útil de um estado de supernutrição, mas isso não significa necessariamente que um excesso de tecido adiposo é a verdadeira causa. Pois quando há uma restrição calórica, mesmo na presença de obesidade contínua, a tendência é se obter a reversão da maioria dos fatores de risco metabólico. Isto sugere que um desequilíbrio energético positivo (supernutrição) tem precedência sobre o excesso de tecido adiposo como causa primária da SM (Grunddy, SM et al 2016).

1.1.4 Interleucina 10

O organismo possui ferramentas com características de distinguir substâncias próprias das não próprias, concretizando a chamada resposta imune. Os linfócitos são células preparadas previamente para fazer o reconhecimento de organismos endógeno e exógeno, possibilitando o controle da resposta imunológica. A tolerância imunológica é a capacidade das células do sistema imune de não-responsividade, ou seja, a discriminação dos antígenos próprios contra os de antígenos estranhos presentes no corpo. Quando essa homeostase se perde pode-se encontrar as patologias autoimunes. (Saraiva, M et al 2010)

O combate a patógenos, por meio da resposta imune, se desenvolve por meio da ativação rápida de citocinas pró-inflamatórias que inicia a defesa do hospedeiro contra a invasão microbiana. Para tanto, o excesso de inflamação pode causar distúrbios metabólicos e hemodinâmicos sistêmicos prejudiciais ao hospedeiro. Resultando em mecanismo paralelo anti-inflamatório, produzido pelo sistema imune, que possibilitaria o controle da produção de moléculas pró-inflamatórias para limitar o dano tecidual e para manter ou restaurar a homeostase tecidual (Iyer, SS. Et al 2012).

Uma potente citocina anti-inflamatória capaz de exercer um papel de extrema importância na prevenção de doenças autoimune e inflamatórias é a Interleucina 10 (IL-10). Com efeitos pleiotrópicos na imunoregulação e na inflamação sendo

produzida principalmente por monócitos e linfócitos B. IL-10 promove mediação de células B e suas funções, aumentando a sobrevivência, a proliferação, a diferenciação, e produção de anticorpos (Iyer, SS. Et al 2012, Abdallah, E. et al 2015).

Sua produção é realizada pelas células T auxiliaadoras (Th2) e macrófagos. Desempenha uma função relevante na regulação das células T e dos monócitos. Tem sido relacionada à obesidade e DM2 como síndromes de resistência à insulina. O gene da IL-10 humano encontra-se no cromossomo 1, estruturado na junção entre 1q31 e 1q32, onde codifica uma proteína com um tamanho molecular de $4,7 \times 10^3$. É um gene muito polimórfico. Foram identificados três polimorfismos em sua região promotora: -592 A/C(rs1800872), -1082 G/A (rs1800896) e -819 T / C (rs1800871). (Yang et al 2019, Ma DH et al 2016).

1.1.5 Interleucina 10 e Síndrome Metabólica

A IL-10 é uma adipocitocina abundantemente expressa em tecido adiposo visceral apresenta um papel muito importante na obesidade. Em indivíduos obesos, muitas adipocitocinas são produzidas em excesso, e conferem, potencialmente, uma função metabólica. Em um estudo feito com crianças obesas na Índia, mostrou que a IL-10 sérica diminuiu e que seu nível baixo está associado a um aumento do Índice de Massa Corporal (IMC) nestas crianças (Kulshrestha, H. et al 2018, Srikanthan, K. et al 2016 Canecki-Varžić S. et al 2018). Esse dado juntamente com outros estudos corrobora com a suspeita de que a obesidade está associada a redução sérica da IL-10 e sua concentração baixa no sangue favorece a síndrome metabólica. Em um estudo feito com mulheres obesas mostra que níveis circulantes de IL-10 estão elevados em mulheres obesas e que baixos níveis de IL-10 estão associados com síndrome metabólica em mulheres obesas e não obesas. (Kulshrestha, H. et al 2018, Srikanthan, K. et al 2016).

A IL-10 provavelmente exerce seus efeitos anti-inflamatórios no sistema vascular através da inibição das interações entre células endoteliais de leucócitos e inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas por macrófagos ou

linfócitos. Ela também regula negativamente a produção de citocinas pró-inflamatórias. (Srikanthan, K. et al 2016)

Um dos métodos pelos quais a IL-10 modera a resposta inflamatória é inibindo a NADPH oxidase, e, portanto, o estresse oxidativo resultante dessa enzima. Isso tem sido associado ao substrato do receptor de insulina (IRS), o qual prejudica sua ativação e sinalização de insulina. Além disso, a via de sinalização da insulina pode ser desregulada por níveis anormais das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α . A IL-10 pode restaurar a sinalização normal da insulina inibindo o estresse oxidativo induzido pela NADPH oxidase ou antagonizando as ações da IL-6 e do TNF- α (Srikanthan, K. et al 2016, Aroor AR. Et al 2013).

Em relação ao papel da IL-10 na sinalização da insulina, um estudo populacional transversal de idosos adultos demonstrou que baixos níveis de IL-10 estão associados com resistência à insulina e diabetes tipo 2. Além disso, o estudo descobriu que os níveis de IL-10 inversamente correlacionado com os níveis de colesterol total, LDL, triglicerídeos, glicose no sangue e hemoglobina glicada positivamente correlacionado com os níveis de HDL (Srikanthan, K. et al 2016). Além disso, em um estudo em camundongos tratados com IL-6 para induzir resistência à insulina, administração in vivo de IL-10 demonstrou proteção contra a insulina prejudicada sinalização que resultou da administração de IL-6, restaurando assim a sensibilidade à insulina e glicose normal metabolismo no tecido hepático e muscular (Kim HJ. Et al 2004).

Por antagonizar as ações pró-inflamatórias da IL-6 e do TNF- α , ambas associadas à síndrome metabólica e suas comorbidades, A IL-10 parece exercer um efeito protetor contra os aumentos nesses citocinas. (Esposito, K. et al 2003, Kulshrestha, H. 2018, Srikanthan, K. et al 2016)

Uma certa especulação que norteia os níveis mais altos de IL-10 observados em mulheres obesas representa uma tentativa de inibir a produção contínua de citocinas pró-inflamatórias, que, no entanto, falha naquelas com baixa produção de IL-10. (Esposito, K. et al 2003, Kulshrestha, H. 2018)

Esta interpretação é apoiada pelo seguinte: 1) produção de IL-10 em humanos são derivados de fatores hereditários (Wetsendorp RG. Et al 1997, Mijac, D. et al 2016); 2) dados de modelos animais sugerem que a deficiência de IL-10 predispõe à aterosclerose (Mallat Z. et al 1999, Han, X. et al 2015) e que a IL-10 age em um ciclo de retroalimentação para inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias (Tedgui

UMA. Et al 2001); e 3) mudanças no estilo de vida a longo prazo, reduzem a prevalência da síndrome metabólica em 46% e estão associadas a pequenas alterações nos níveis de IL-10, sugerindo um papel para fatores não hereditários na regulação da IL-10 somente em mulheres obesas capazes de aumentar sua capacidade de produção de IL-10 (Esposito, K. et al 2003, Kulshrestha, H. 2018).

1.2 Justificativa

Sabe-se que cada vez mais que as doenças crônicas não transmissíveis vêm sendo um dos principais sinais de alerta para o século XXI, pois acometem um grande número de pessoas. Partindo do pressuposto de que a graduação em farmácia forma farmacêutica generalista, estes têm que saber, não só fazer processos diagnósticos clínicos, mas entender a complexidade genética e ambiental que uma patologia pode exercer no indivíduo, para promover um acompanhamento terapêutico completo e assistencialista. O papel do farmacêutico em patologias como essa requer um amplo conhecimento de como é a patogênese e quais fatores estão associados, pois no tratamento da mesma ele é um dos responsáveis por manusear os medicamentos usados e ser um fator preponderante nas relações de multidisciplinares sobre doenças ligadas ao metabolismo.

2 OBJETIVOS

Sendo assim, para melhor compreensão das DCNT o objetivo geral deste estudo é verificar a frequência do polimorfismo IL10 -592 C→A em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM) e compara o nível de expressão sérico da IL-10 conforme o genótipo -592 IL10 os objetivos específicos:

- a) Realizar levantamento bibliográfico sobre polimorfismo IL10 -592 C→A.
- b) Padronizar e executar as estratégias de biologia molecular (PCR e digestão enzimática) para estudo da frequência do polimorfismo IL10 -592 C→A em indivíduos idosos com Síndrome Metabólica.
- c) Investigar a possível associação entre o polimorfismo IL10 -592 C→A com diferentes manifestações clínicas e o prognóstico de pacientes com Síndrome Metabólica.

3 REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, Emad; WAKED, Emam; ABDELWAHAB, Mahmoud A. Evaluating the association of interleukin-10 gene promoter-592 A/C polymorphism with lupus nephritis susceptibility. **Kidney research and clinical practice**, v. 35, n. 1, p. 29-34, 2016.
- AZAMBUJA, Cati Reckelberg et al. O Diagnóstico da síndrome metabólica analisado sob diferentes critérios de definição. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 482, 2015
- BIERMANN, M. H. et al. The role of dead cell clearance in the etiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus: dendritic cells as potential targets. **Expert Rev Clin Immunol**, v. 10, n. 9, p. 1151-64, Sep 2014. ISSN 1744-8409 (Electronic) 1744-666X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25081199> >.
- COSTI, Luisa Ribeiro et al. Mortalidade por lúpus eritematoso sistêmico no Brasil: avaliação das causas de acordo com o banco de dados de saúde do governo. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 57, n. 6, p. 574-582, 2017.
- DAS CHAGAS MEDEIROS, M. M. et al. Clinical and immunological aspects and outcome of a Brazilian cohort of 414 patients with systemic lupus erythematosus (SLE): comparison between childhood-onset, adult-onset, and late-onset SLE. **Lupus**, v. 25, n. 4, p. 355-363, 2016.
- GERGIANAKI, Irini; BERTSIAS, George. Systemic Lupus Erythematosus in Primary Care: an update and practical messages for the General Practitioner. **Frontiers in medicine**, v. 5, p. 161, 2018.
- GRUNDY, Scott M. Metabolic syndrome update. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 26, n. 4, p. 364-373, 2016
- HEDRICH, Christian Michael. Epigenetics in SLE. **Current rheumatology reports**, v. 19, n. 9, p. 58, 2017.
- HOCHBERG, Marc C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis & rheumatism**, v. 40, n. 9, p. 1725-1725, 1997.
- HUANG, Z. Y. et al. Meta-analysis of the IL-10 promoter polymorphisms and pediatric asthma susceptibility. **Genet Mol Res**, v. 15, n. 2, 2016

IYER, Shankar Subramanian; CHENG, Gehong. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 32, n. 1, 2012.

KADO, Ruba. Systemic Lupus erythematosus for primary care. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 45, n. 2, p. 257-270, 2018.

KUNG, Wan-Ju et al. Association of interleukin-10 polymorphisms with cytokines in type 2 diabetic nephropathy. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 12, n. 10, p. 809-813, 2010.

KUNZ, M. Lupus erythematosus. Part I: epidemiology, genetics and immunology. **J Dtsch Dermatol Ges**, v. 11, n. 8, p. 709-19; quiz 720, 709-720; quiz 721, Aug 2013. ISSN 1610-0387 (Electronic) 1610-0379 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23889785> >.

LA PAGLIA, Giuliana Maria Concetta et al. One year in review 2017: systemic lupus erythematosus. **Clin Exp Rheumatol**, v. 35, n. 4, p. 551-561, 2017.

LIU, Ping et al. IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e69547, 2013.

MTIRAOU, Nabil et al. Predictive value of interleukin-10 promoter genotypes and haplotypes in determining the susceptibility to nephropathy in type 2 diabetes patients. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 25, n. 1, p. 57-63, 2009.

PARKS, Christine G. et al. Understanding the role of environmental factors in the development of systemic lupus erythematosus. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 31, n. 3 p. 306-320, jun, 2017.

REES, Frances et al. The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. **Rheumatology**, v. 56, n. 11, p. 1945-1961, 2017.

RHEE E. Being Metabolically Healthy, the Most Responsible Factor for Vascular Health. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):19–25.

SAAD, Maria Auxiliadora Nogueira et al. Prevalência de síndrome metabólica em idosos e concordância entre quatro critérios diagnósticos. **Arq Bras Cardiol**, v. 102, n. 3, p. 263-9, 2014.

SARAIVA, Margarida; O'GARRA, Anne. The regulation of IL-10 production by immune cells. **Nature reviews immunology**, v. 10, n. 3, p. 170, 2010.

ZHANG, Ying-Min; MAO, Yi-Min; SUN, Yu-Xia. Genetic polymorphisms of IL-6 and IL-10 genes correlate with lung cancer in never-smoking Han population in China. **Int J Clin Exp Med**, v. 8, n. 1, p. 1051-1058, 2015.

GARCIA LIRA NETO, José Cláudio et al. Prevalência da Síndrome Metabólica em pessoas com Diabetes Mellitus tipo 2. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 70, n. 2, 2017

Arababadi MK, Mirzaei MR, Sajadi SMA, Hassanshahi G, Ahmadabadi BN, Salehabadi VA, et al. Interleukin (IL)-10 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes with and without nephropathy: A study of patients from the Southeast Region of Iran. **Inflammation**. 2012;35(3):797–802.

Van Exel, E., Gussekloo, J., de Craen, A.J., Frölich, M., Der Wiel A, Bootsma-Van, RG,westendorp, 2002, Apr. Leiden 85 plus study. low production capacity of interleukin-10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: the Leiden 85-plus study. **Diabetes** 51 (4), 1088–1092.

Tang B, Chen YK, Luo WJ, Fu J, Sun JM. Association between interleukin-10 -1082A/G, -819C/T and -592C/A polymorphisms with deep venous thrombosis. *Hum Immunol* [Internet]. **American Society for Histocompatibility and Immunogenetics**; 2014;75(3):203–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2013.12.013>.

Vozarova, B., Fernandez-Real, J.M., Knowler, W.C., Gallart, L., Hanson, R.L., (2003) The interleukin-6 (-174) G/C promotor polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians. **Human Genetics**, **112**, 409.

Ma DH, Xu QY, Liu Y, Zhai QQ, Guo MH. Association between interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility to diabetic nephropathy in a Chinese population Study subjects. 2016;15(2):1–7.

Howell, W.M., Rose-Zerilli, M.J., 2007. Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and prognosis. **J. Nutr.** 137, 194S–199S.

Li J, Wu S, Wang MR, Wang TT, Zhu JM. Association of the interleukin-10 -592A/C, -1082G/A and -819T/C gene polymorphisms with type 2 diabetes: A meta-analysis. **Gene** [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;521(2):211–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.072>

YANG, Shu-Liang; HUANG, Shi-Jie. Interleukin-10 polymorphisms (rs1800871, rs1800872 and rs1800896) and periodontitis risk: A meta-analysis. **Archives of oral biology**, v. 97, p. 59-66, 2019.

Katherine Esposito, Alessandro Pontillo, Francesco Giugliano, Giovanni Giugliano, Raffaele Marfella, Gianfranco Nicoletti, Dario Giugliano, Association of Low Interleukin-10 Levels with the Metabolic Syndrome in Obese Women, ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, Volume 88, Issue 3, 1 March 2003, Pages 1055–1058, <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021437>

Aroor AR, McKarns S, Demarco VG, Jia G, Sowers JR. Maladaptive immune and inflammatory pathways lead to cardiovascular insulin resistance. **Metabolism: clinical and experimental**. 2013; 62: 1543-52.

Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, et al. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. **Diabetes**. 2004; 53: 1060-7.

MIJAC, Dragana et al. The polymorphism rs3024505 (C/T) downstream of the IL10 gene is associated with Crohn's disease in Serbian patients with inflammatory bowel disease. **The Tohoku journal of experimental medicine**, v. 240, n. 1, p. 15-24, 2016.

HAN, Xinbing; BOISVERT, William A. Interleukin-10 protects against atherosclerosis by modulating multiple atherogenic macrophage function. **Thrombosis and haemostasis**, v. 113, n. 03, p. 505-512, 2015.

4 ARTIGO

Título: O impacto do polimorfismo genético e níveis de IL-10 em pacientes portadores de síndrome metabólica.

Autores: Gabriel M. A. Seixas¹, Renata de Souza Freitas², Calliandra Maria de Souza Silva¹, Luciano Ramos de Lima¹, Marina Morato Stival¹, Silvana Schewerz Funghetto¹, Izabel Cristina Rodrigues da Silva¹

Afiliações:

1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil;
2. Centro Universitário do Distrito Federal

***Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Email: belbiomedica@gmail.com

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

RESUMO

INTRODUÇÃO: Síndrome Metabólica (SM), uma doença complexa e crônica, que sofre influência genética e ambiental. Consiste em um apanhado de fatores plurimetabólicos, que promove uma desordem no organismo, capaz de provocar alteração cardiovascular aterosclerótica (ASCVD) precoce, e um provável desenvolvimento de diabetes mellitus.

OBJETIVOS: verificar a frequência do polimorfismo IL10 -592 C→A em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM) e compara o nível de expressão sérico da IL-10 conforme o genótipo -592 IL10.

MATERIAL E MÉTODO: Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo, com delineamento transversal em mulheres idosas atendidas em Unidade Básica de Saúde do Distrito Federal – Brasil, no qual foram obtidas amostra de sangue e soro de 128 pacientes. A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-10 foram medidos por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). Para comparação de médias das dosagens da citocina, foi utilizado o teste H de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS: O genótipo mais freqüente foi o CA (n=60; 46,9%) seguido do CC (n = 57; 44,5%). Não houve associação estatística da distribuição genotípica com as características clínicas – Diabetes Mellitus (P = 0,680); Hipertensão arterial (P = 0,167); Doença infecciosa (P = 0,887); Fibromialgia (P=0,545). O genótipo AA apresentou as menores medidas séricas, e sem registro de indivíduos com valores séricos elevados (P<0,001).

CONCLUSÃO: O polimorfismo *IL10* (-592) não foi associado à susceptibilidade das características clínicas dos pacientes, porém os níveis séricos da citocina elevaram-se nos pacientes que apresentou o genótipo CC, e teve sua menor concentração sérica nos indivíduos com genótipo AA. Bem como o genótipo heterozigoto CA foi o mais frequente em pacientes diabéticas.

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

ABSTRACT

INTRODUCTION: Metabolic Syndrome (MS), a complex and chronic disease, that undergoes genetic and environmental influence. It consists of a collection of plurimetabolic factors, which promote a disorder in the body, capable of provoking early atherosclerotic cardiovascular disorder (CVAD), and a probable development of diabetes mellitus.

OBJECTIVES: To verify the frequency of the IL10 -592 C□A polymorphism in a population sample of elderly Brazilian subjects with Metabolic Syndrome (MS) and compare the serum expression level of IL-10 according to the genotype -592 IL10.

MATERIAL AND METHOD: This is a quantitative, descriptive study with a cross-sectional design in elderly women attended at a Basic Health Unit of the Federal District - Brazil, in which a blood and serum sample of 128 patients were obtained. Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum IL-10 levels were measured by immunoenzymatic assay kit (ELISA). Kruskal-Wallis H test was used to compare the mean values of the cytokine dosages.

RESULTS: The most frequent genotype was CA (n = 60, 46.9%) followed by CC (n = 57, 44.5%). There was no statistical association of the genotypic distribution with the clinical characteristics - Diabetes Mellitus (P = 0.680); High blood pressure (P = 0.167); Infectious disease (P = 0.887); Fibromyalgia (P = 0.545). The AA genotype had the lowest serum levels, and no individuals with elevated serum levels were recorded (P <0.001).

CONCLUSION: The IL10 (-592) polymorphism was not associated with the susceptibility of the clinical characteristics of the patients, but the serum cytokine levels were elevated in patients who presented the CC genotype, and had the lowest serum concentration in the individuals with AA genotype. As well as the heterozygous CA genotype was the most frequent in diabetic patients.

Keywords: Interleukin 10. Metabolic Syndrome. Genetic Polymorphism.

4.1 Introdução

Síndrome Metabólica (SM) é uma doença complexa e crônica, que sofre influência genética e ambiental. Esta patologia consiste em um apanhado de fatores plurimetabólicos, que promovem uma desordem no organismo, capazes de provocar precocemente uma alteração cardiovascular aterosclerótica (ASCVD), e um provável desenvolvimento de diabetes mellitus. Para tanto, indicadores como dislipidemia aterogênica, pressão arterial elevada, disglucemia, junto com resistência a insulina, além da ocorrência de hipertensão e obesidade visceral, estado pré-trombótico e um estado pró-inflamatório, configuram este quadro do agravo¹.

A proposta da Organização Mundial de Saúde (OMS) em definir a SM relata a obrigatoriedade de ter diabetes, junto com o que a rodeia, como resistência insulínica e anormalidades na absorção de glicose ou uma elevação, em jejum, do valor da glicemia para firmar o critério diagnóstico. A justificativa destes acontecimentos deve-se a semelhança do mecanismo patológico que acomete o aumento da glicemia e concomitante modificação no metabolismo dos lipídeos, decorrendo em problemas hormonais sendo visualizada pelo fenótipo obeso, o que proporciona no acometimento de doenças cardiovasculares^{1,2}

Avaliar a resistência insulínica ou a desordem da biotransformação da glicose, fez com que a Primeira Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM) percebesse inadequações para a definição proposta pela a OMS. Esta definição engloba os parâmetros ligados ao desequilíbrio na tolerância à glicose ou resistência insulínica, mais os parâmetros ligados a pressão arterial sistêmica e/ou uso de anti-hipertensivos, aumento dos triglicerídeos séricos, com ou sem a diminuição do HDL colesterol, relação cintura/quadril alterada, com ou sem o índice de massa corpórea (IMC) e micro albuminúria³.

Uma potente citocina anti-inflamatória capaz de exercer um papel de extrema importância na prevenção de doenças autoimune e inflamatórias é a Interleucina 10 (IL-10). Com efeitos pleiotrópicos na imunoregulação e na inflamação sendo produzida principalmente por monócitos e linfócitos B. Um estudo feito com mulheres obesas mostra que baixos níveis de IL-10 estão associados com síndrome metabólica em mulheres obesas e não obesas^{4,5}. O gene da IL-10 humano encontra-se no cromossomo 1, estruturado na junção entre 1q31 e 1q32, onde codifica uma proteína

com um tamanho molecular de $4,7 \times 10^3$. É um gene muito polimórfico. Foram identificados três polimorfismos em sua região promotora: -592 A/C(rs1800872), -1082 G/A (rs1800896) e -819 T / C (rs1800871).

Sendo assim, para melhor compreensão desta patologia o objetivo deste estudo foi verificar a frequência do polimorfismo IL10 -592 C→A em uma amostra populacional de indivíduos brasileiros idosos com Síndrome Metabólica (SM) e associar esta alteração genética com algumas características clínicas, além de estabelecer a relação genótipo-fenótipo deste polimorfismo, pela avaliação dos níveis séricos da citocina.

4.2 Materiais e Métodos

Tratou-se de um estudo quantitativo, descritivo, com delineamento transversal em mulheres idosas atendidas em Unidade Básica de Saúde do Distrito Federal - Brasil. Realizou-se a pesquisa na Região Administrativa (RA) de Ceilândia do Distrito Federal. Os participantes da pesquisa foram provenientes das Unidades Básicas de Saúde (UBS) número 06 e 08 de Ceilândia. Na seleção das participantes do estudo foram utilizados os seguintes critérios: Inclusão: Ser do sexo feminino; Ter idade ≥ 60 anos; Ser capaz de compreender, verbalizar e responder as questões propostas; e expressar o aceite de participação como sujeito da pesquisa após esclarecimento dos objetivos e métodos de pesquisa, por assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) de acordo com resolução nº. 466/2012. Foram critérios de Exclusão: Ser portadora de doenças mentais ou de neoplasias em tratamento; Ter passado por cirurgia cardíaca nos últimos seis meses; e fazer uso de vitaminas ou suplemento alimentar.

A amostra foi probabilística e o cálculo amostral foi calculado considerando erro amostral de 5%, intervalo de confiança (IC) de 95%, tamanho da população de 600 pessoas e a distribuição de resposta de 10% resultando em 113 mulheres idosas.). Este projeto está cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob nº AB9E335 conforme a Lei nº 13,123/2015 e seus regulamentos, decreto nº 8.772/2016 (ANEXO A), e foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS) da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (SES-DF) e aprovado com parecer de número 1.355.211 (ANEXO B, C, D). As características clínicas dos participantes foram registradas em fichas de identificação (ANEXO E).

As amostras de sangue foram coletadas em sua totalidade por punção venosa para isolamento do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do PureLink® Genomic DNA Mini Kit da empresa Invitrogen (catálogo #K1820-02, lote #19339891). A concentração de DNA foi determinada através da corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL.

Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para estudo da distribuição dos SNPs. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar os polimorfismos foram respectivamente: Senso 5'-GGTGAGCACTACCTGACTAGC-3' e Antisenso 5'-CCTAGGTCACAGTGACGTGG-3'. Estes oligonucleotídeos flanqueiam o gene IL10 na região promotora e posição -592. As condições de termociclagem foram: 94°C por 5 minutos, seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 60 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos a 56°C por 60 segundos e 72°C por 45 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o termociclador Life Express ThermalCycler TC-96/G/H(b).

Em cada reação foram utilizados 4,0μL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/μL; 2,5μL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5μL de MgCl₂ 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 0,5μL de desoxirribonucleotídeo trifostato (dNTPs; 2,5mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 0,5μL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 5U/μL); 1,5μL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10μM, IDT technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25μL por reação.

O produto da PCR (fragmento, 412pb) foi digerido com a enzima *RsaI* (Invitrogen®). O alelo A cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 412pb é clivado em dois de 236 pb e 176 pb; o alelo C não é clivado pela enzima. Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio 0,1% em uma potência de 100W por 20 minutos.

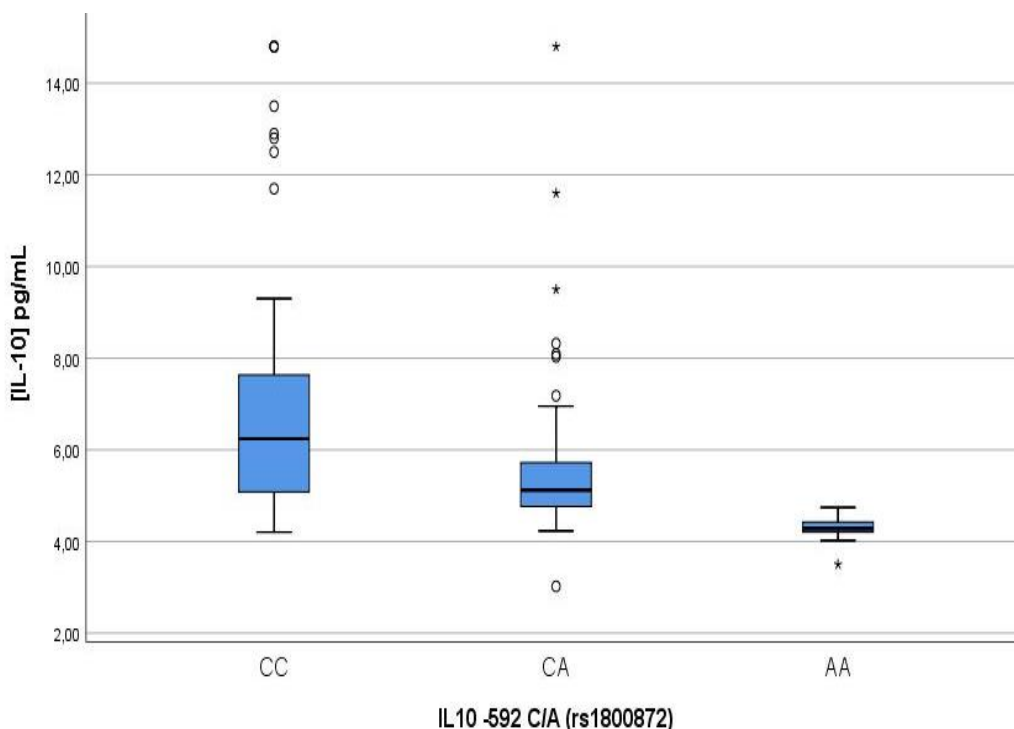
Para quantificação da interleucina IL-10 no soro dos pacientes, a amostra de sangue foi coletada em tubos livres de endotoxina e a análise foi executada com o uso do kit para ensaio imunoenzimático sanduíche da Life Technologies específico para IL-10 humano, Human IL-10 ELISA Kit (catálogo #KHC010, lote #74788401A) conforme instrução do fabricante. Valores superiores a 9,1 pg/mL são considerados valores séricos elevados. Estes níveis séricos foram mensurados uma única vez no grupo controle, e no grupo caso.

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

4.3 Resultados e Discussão

No final, 128 pacientes foram recrutadas. O genótipo mais freqüente foi o CA ($n=60$; 46,9%) seguido do CC ($n = 57$; 44,5%). Não houve associação estatística da distribuição genotípica com as características clínicas – diabetes mellitus ($P = 0,680$); Hipertensão arterial ($P = 0,167$); doença infecciosa ($P = 0,887$); fibromialgia ($P=0,545$). É digno de nota que entre as 69 pacientes diabéticas, o genótipo mais freqüente era o heterozigoto (50,7%), já entre as não portadoras de diabetes, o mais freqüente era o homozigoto CC (45,8%; $n=27$). Por outro lado, a diferença na expressão mediana da citocina IL-10 foi estatisticamente significativa, sendo que o genótipo AA apresentou as menores medidas séricas, e sem registro de indivíduos com valores séricos elevados ($P < 0,001$; figura 1).

Gráfico 1 - Níveis de expressão sérica de citocina IL-10 conforme o genótipo -592 IL10.



Na literatura, a relação entre os polimorfismos de IL10 e a síndrome metabólica, especialmente na presença de diabetes, é controverso em diferentes populações. O estudo realizado no Irã evidenciou que o polimorfismo do gene IL-10 -592 A/C tem um efeito na patogenia do diabetes com nefropatia. O genótipo mais frequente do polimorfismo da IL-10-592 no grupo caso (diabéticos sem nefropatia) foi C/C (60%) e no grupo de diabéticos nefropáticos foi C/C e A/C ambos com 47%. No grupo controle foi A/C com 55%⁶. Por outro lado, Saxena et al mencionaram que pacientes indianos portadores do polimorfismo da IL-10 -592C/A apresentaram um grande risco de desenvolver diabetes tipo 2 (DM2) quando comparado com o grupo controle^{7,8}.

Bai et al demonstraram que os polimorfismos IL-10 nas variantes -592C/ A e -1082G/A elevavam o risco de DM2 em uma população da China⁹. Dong et al sugeriu que o polimorfismo da IL-10 contribui para o início do DM2, visto que, observaram que pacientes com expressão do genótipo AA na região promotora -592 C/A tinham um maior risco de desenvolvimento do DM2 quando comparados com aqueles que expressavam o genótipo CC¹⁰.

Os indivíduos que portavam o alelo A da IL-10 -592 C/A tinham um risco de 134 vezes maior de evoluir com o DM2 quando comparados com os que apresentavam o

alelo C. O estudo não observou correlação significativa entre os polimorfismos da IL-10 -1082 G/A e -819 C/T e o risco de desenvolvimento de DM2¹⁰.

Por fim, este estudo mostrou o genótipo AA com a menor produção de citocina IL-10. Eskdale et al, ao estudar os polimorfismo da região promotora da IL10(-1082; -819; -592) os alelos ATA respectivamente expressa uma diminuição de IL-10, enquanto os alelos de cada uma das regiões promotoras do gene GCC produz o aumento da expressão da citocina¹¹.

4.4 Conclusão

Este estudo identificou que mais de 90% das pacientes recrutadas eram portadoras do alelo ancestral C do polimorfismo IL10 -592 C→A, e que a presença das variantes da região promotora do gene não está associada com a ocorrência de diabetes ou hipertensão arterial, mas altera os níveis de expressão de citocina, de tal maneira que a redução na produção da interleucina foi observada em pacientes portadoras do genótipo homozigoto polimórfico. Porém, os mecanismos relacionados a esta queda da produção carecem de mais detalhamentos, e novos estudos sobre a relação genótipo-fenótipo deverão ocorrer.

4.5 Referências

- 1) GRUNDY, Scott M. Metabolic syndrome update. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 26, n. 4, p. 364-373, 2016.

- 2) RHEE E. Being Metabolically Healthy, the Most Responsible Factor for Vascular Health. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):19–25.
- 3) AZAMBUJA, Cati Reckelberg et al. O Diagnóstico da síndrome metabólica analisado sob diferentes critérios de definição. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 482, 2015
- 4) ABDALLAH, Emad; WAKED, Emam; ABDELWAHAB, Mahmoud A. Evaluating the association of interleukin-10 gene promoter-592 A/C polymorphism with lúpus nephritis susceptibility. **Kidney research and clinical practice**, v. 35, n. 1, p. 29-34, 2016.
- 5) IYER, Shankar Subramanian; CHENG, Gehong. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 32, n. 1, 2012.
- 6) Arababadi MK, Mirzaei MR, Sajadi SMA, Hassanshahi G, Ahmadabadi BN, Salehabadi VA, et al. Interleukin (IL)-10 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes with and without nephropathy: A study of patients from the Southeast Region of Iran. *Inflammation.* 2012;35(3):797–802.
- 7) Saxena M, Srivastava N, Banerjee M. Association of IL-6, TNF-?? and IL-10 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2013;40(11):6271–9.
- 8) Saxena M, Agrawal CC, Bid HK, Banerjee M. An interleukin-10 gene promoter polymorphism (-592A/C) associated with type 2 diabetes: a North Indian study. *Biochem Genet* [Internet]. 2012;50(7–8):549–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22298356>.
- 9) Bai H, Jing D, Guo A, Yin S. Association between interleukin 10 gene polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. *J Int Med Res* [Internet]. 2014;42(3):702–10. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300060513505813>.
- 10) Dong , Liu , Liang , Du , Wang , Li WX G. Association between -1082G / A , -819C / T , and -592C / A genetic polymorphisms in IL-10 and risk of type 2 diabetes mellitus in a Chinese. 2016;15(September 2013):10–2.
- 11) Eskdale J, Gallagher G, Verweij CL, Keijsers V, Westendorp RG, et al. (1998) Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 9465–9470.

5 ANEXOS

ANEXO A - CADASTRO SIGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
 Cadastro nº AB9E335

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AB9E335**
 Usuário: **Izabel Cristina Rodrigues da Silva**
 CPF/CNPJ: **779.978.081-91**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Homo sapiens

Título da Atividade: **ABORDAGEM DE CONDIÇÕES CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA A SAÚDE**

Equipe

Izabel Cristina Rodrigues da Silva	Universidade de Brasília
Marina Morato Stival	Universidade de Brasília
Silvana Schwerz Funghetto	Universidade de Brasília

Data do Cadastro: **30/04/2018 05:45:53**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

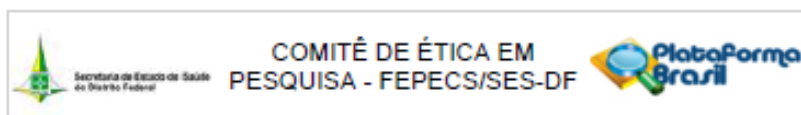


Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 5:46 de 30/04/2018.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

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



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Abordagem das Condições Crônicas Não Transmissíveis na Atenção Primária à Saúde

Pesquisador: Marina Morato Stival

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 2

CAAE: 50367215.5.0000.5553

Instituição Proponente: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal / FEPECS/ SES/ DF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.355.211

Apresentação do Projeto:

Conforme o Parecer 1.314.141

Objetivo da Pesquisa:

Conforme o Parecer 1.314.141

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme o Parecer 1.314.141

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme o Parecer 1.314.141

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Conforme o Parecer 1.314.141

Recomendações:

Recomenda-se em Pesquisas futuras, pautar-se nas recomendações do Conselho Nacional de Saúde, em Resolução de número 466 de 12/12/2012. O instrumento de coleta de dados foi anexado ao Projeto, na forma do recomendado pelo CEP/FEPECS. O colegiado havia solicitado justificativas quanto ao projeto de pesquisa não necessitar a análise da CONEP. A pesquisadora

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3325-4955 **Fax:** (33)3325-4955 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Secretaria de Estado de Saúde
do Distrito Federal

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA - FEPECS/SES-DF



Continuação do Parecer: 1.355.211

apresentou longa e satisfatória justificativas, em anexo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos sujeitos da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo, e somente poderá se iniciar após a aprovação do CEP. O pesquisador deverá encaminhar relatório final, após a pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_598464.pdf	22/11/2015 17:42:01		Aceito
Outros	Instrumentos.pdf	22/11/2015 17:41:05	Marina Morato Stival	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Resposta_CEP.pdf	22/11/2015 17:39:21	Marina Morato Stival	Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE.pdf	17/10/2015 10:02:42	Marina Morato Stival	Aceito
Outros	termosconcordancia.pdf	07/10/2015 20:48:35	Marina Morato Stival	Aceito
Outros	CurriculoMarinaMoratostival.pdf	07/10/2015 20:47:29	Marina Morato Stival	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOAbordagemDCNT.pdf	07/10/2015 20:41:25	Marina Morato Stival	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	07/10/2015 20:39:19	Marina Morato Stival	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-604
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3325-4955 Fax: (33)3325-4955 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com

ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Abordagem das Condições Crônicas Não Transmissíveis na Atenção Primária à Saúde

O (a) Senhor (a) está sendo convidada a participar do projeto: Abordagem das Condições crônicas não transmissíveis na atenção primária à saúde. O nosso objetivo é Investigar o processo saúde-doença de indivíduos que vivem com hipertensão arterial e diabetes *mellitus* em Regional Administrativa do Distrito Federal.

O (a) senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A sua participação será através de uma avaliação realizada na Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília (FCE-UnB) para: medida de sua composição corporal pelo DXA, uma balança, e coleta de 15ml de sangue do seu braço para realização de exames que permitem conhecer um pouco melhor como “funciona” estas doenças, do ponto de vista genético. Serão utilizados equipamentos novos, estéreis e descartáveis. Poderá haver pequeno incômodo de dor no momento da introdução da agulha para a retirada do sangue e, eventualmente, a formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local.

Além disso você participará de uma entrevista e responderá perguntas de um questionário com um tempo estimado de 1 hora. Será respeitado o tempo de cada um para respondê-lo. Depois será agendada uma visita em sua casa para que um pesquisador vá até sua casa e faça uma entrevista e observe sua casa. Esta visita poderá durar até 1 hora. Informamos que a Senhor (a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para a senhor (a).

A sua participação neste estudo poderá proporcionar, no âmbito pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido. Os resultados estarão sempre disponíveis a você. Caso seja de seu desejo, os resultados serão discutidos com você pela equipe deste trabalho. Sua participação poderá ainda ajudar no maior conhecimento sobre **Condições Crônicas Não Transmissíveis**, principalmente em relação às causas genéticas da doença.

Sua participação é voluntária e não alterará o seguimento e tratamento da doença que você já está fazendo. Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer

momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis. Caso você decida não participar, isto não afetará o seguimento e tratamento normal nem o seu relacionamento com seu médico. Conforme previsto pelas leis brasileiras você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade da Ceilândia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “**Condições Crônicas Não Transmissíveis**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

Os resultados da pesquisa serão divulgados em eventos científicos e na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dar(a). Marina Morato Stival, na instituição Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília telefone: 8178-3397 ou 3107-8418, no horário: 08:00 às 18:00.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidas através do telefone: (61) 3325-4955.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Nome / assinatura:

Pesquisador

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO D - Termo de Guarda de Material Biológico

Termo de guarda de material biológico de todos os participantes da pesquisa.

Termo de Guarda de Material Biológico

Este documento é chamado é chamado Termo de Guarda de Material Biológico. Ele contém explicações sobre a guarda de seu material biológico (sangue). Você poderá autorizar ou não a guarda de seu material biológico. A decisão é sua.

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia, no banco de amostras “Gpesen”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva e será utilizado somente para verificar os polimorfismos genéticos do presente estudo.

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados.

Se for de seu interesse, você terá acesso aos resultados dos seus exames.

O sangue será utilizado somente em pesquisas que tenham como objetivos verificar a frequência de determinadas sequências no DNA (material genético que informa como nosso corpo é formado) em indivíduos saudáveis.

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

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

A qualquer momento você terá acesso a seus dados genéticos, assim como terá o direito de retirar seu material biológico do banco onde se encontra armazenado.

Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação do CEP da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

Eu, _____ RG _____, após receber uma explicação completa dos procedimentos envolvidos na guarda de material biológico, venho através deste termo consentir a guarda de meu material biológico (sangue) decorrente da presente pesquisa.

Assinatura do participante

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO E – Ficha de Identificação

IDENTIFICAÇÃO**1. Dados Pessoais**

Nome: _____

Sexo: F () M ()

Telefone: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: ____ anos Estado Civil: _____

Endereço: _____

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Cor: () Branca () Parda () Negra () Outros

Nível de escolaridade: _____

Ocupação: _____

Possui familiares: () Sim () Não

Filhos: _____

Renda mensal: _____

Renda familiar: _____

Reside em casa: () própria () alugada () cedida

Número de moradores na casa:

Religião: _____

Diagnóstico: () HAS Tempo de diagnóstico: _____ () DM Tempo de diagnóstico: _____

Tipo de DM: () Insulino-dependente () Não Insulino-Dependente

Outras doenças: _____

Paciente do grupo controle: () Sim () Não

2- Hábitos

Tabagismo () Não () Sim. Há quantos anos?

Etilista () Não () Sim. Há quantos anos? _____

Realiza exercícios físicos? () Não () Sim. Com que frequência? _____

Tipo de exercício: _____

Sono: () Normal () Insônia () Sonolência () Dificuldade para adormecer

Volume de líquido ingerido diariamente:

Água: _____ mL Refrigerantes: _____ mL Sucos: _____ mL Outros: _____ mL

Usa adoçantes? () Não () Sim Com que frequência?

Lazer: _____

3- Alimentação

Nº de refeições por dia: _____

Tem restrição alimentar? () S () N Se sim, a qual alimento? _____

Faz dieta alimentar: () Sim () Não

4- Sexualidade

() Ativa () Inativa () Uso de preservativo () mais de um parceiro

5. Antecedentes familiares

() Diabetes () Hipertensão arterial () Cardiopatias () Neoplasias

Outros:

6. Antecedentes ginecológicos

Menarca: _____ Menopausa: _____

ANEXO F - NORMAS DO PERIÓDICO

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

ANÁLISE DOS TRABALHOS

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

ESTRUTURA DO TEXTO

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- **Artigos de periódicos (um só autor)** Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- **Artigos de periódicos (até seis autores)** Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- **Artigos de periódicos (mais de seis autores)** Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- **Artigo de periódico on-line** Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.

- **Livros no todo (dois autores)** Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.
- **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor** Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.
- **Parte de livro em meio eletrônico** São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.
- **Evento em meio eletrônico** Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.
- **Tese ou dissertação** Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
- **Citações no texto** Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

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

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

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

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

Abreviações e nomes de medicamentos

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

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