



Universidade de Brasília  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DOS GENES *IL6*, *TNFA* E *ECA* EM PACIENTES  
DIAGNOSTICADOS COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO  
E/OU ANEURISMA INTRACEREBRAL EM UMA AMOSTRA DO DISTRITO  
FEDERAL.

FELIPE SILVA ALVES BORGES

Brasília – DF  
2017

FELIPE SILVA ALVES BORGES

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DOS GENES *IL6*, *TNFA* E *ECA* EM PACIENTES  
DIAGNOSTICADOS COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO  
E/OU ANEURISMA INTRACEREBRAL EM UMA AMOSTRA DO DISTRITO  
FEDERAL.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-  
Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de  
Medicina da Universidade de Brasília, como parte  
dos requisitos necessários para a obtenção do  
Título de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega.

Brasília – DF

2017

## **Agradecimentos**

A Deus, por me dar a paz e clareza espiritual para persistir nos meus desafios.

À Universidade de Brasília, por proporcionar esta oportunidade de aprendizado e contribuição intelectual.

Ao meu orientador Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega, pela contribuição, orientação e os conselhos no decorrer deste mestrado.

À Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, pela orientação, dedicação, paciência, compreensão e, sobretudo, amizade durante todo o período do mestrado.

Ao Prof. Dr. Luzitano Brandão Ferreira, pela parceria no trabalho e criação do projeto de pesquisa.

À Profa. Dra. Hélia Carla Souza, pela contribuição na obtenção de resultados.

Aos membros do Laboratório de Patologia Molecular, pelo apoio acadêmico.

À minha amiga Lígia Canongia pela ajuda e aprendizado das práticas laboratoriais essenciais para a realização deste projeto.

À Capes, FAPDF e Faculdade LS pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, sem o incentivo e apoio deles nada disso teria sido possível.

À minha família e amigos pela torcida e conselhos.

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 Acidente Vascular Encefálico .....	2
1.1.1 Fisiopatologia .....	3
1.1.2 Classificação Etiológica.....	5
1.2 Aneurisma intracerebral .....	7
1.3 Prognóstico do paciente pós-AVE .....	8
1.4 Epidemiologia.....	10
1.5 Fatores de risco .....	12
1.6 Polimorfismos genéticos .....	14
1.6.1 Interleucina 6 (IL6) .....	15
1.6.2 Tumor necrosis factor alpha (TNFA).....	16
1.6.3 Enzima conversora de Angiotensina (ECA) .....	17
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>20</b>
3.1 Delineamento.....	20
3.2 Campo de estudo .....	20
3.3 Amostra .....	21
3.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	24
3.5 Termo de Guarda de Material Biológico.....	25
<b>4 REFERENCES.....</b>	<b>26</b>
<b>ARTIGO 1.....</b>	<b>36</b>
ASSOCIATION OF THE INTERLEUKIN-6 -174 GC POLYMORPHISM WITH THE RISK AND THE PROGNOSIS OF HEMORRHAGIC STROKE AND ANEURYSM.....	36
<b>ARTIGO 2.....</b>	<b>49</b>
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA GENE IN BRAZILIAN HEMORRHAGIC STROKE AND CEREBRAL ANEURYSM PATIENTS. ....	49
<b>ARTIGO 3.....</b>	<b>58</b>
ASSOCIATION OF ACE (D/I) POLYMORPHISM WITH HEMORRHAGIC STROKE AND ANEURYSM. ....	58
<b>ANEXOS .....</b>	<b>68</b>
ANEXO A - Aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa/SES-DF. ....	68

ANEXO B – Ficha de identificação dos participantes da pesquisa. ....	69
ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE.....	70
ANEXO D – Termo de guarda de material biológico de todos os participantes da pesquisa. ....	77
ANEXO E – Anais de Congressos.....	83
ANEXO F – Comprovante de submissão do artigo 1 .....	85

## **Lista de Abreviaturas**

APP - *Amyloid beta precursor protein*

ATP – Adenosina Trifosfato

AVE – Acidente Vascular Encefálico

AVEH – Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico

AVEI – Acidente Vascular Encefálico Isquêmico

BRI – Proteína Integral da Membrana

CST3 – Cisteína C 3

DATASUS – Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde

DM – *Diabetes Mellitus*

DNA - Deoxyribonucleic Acid

ECA – Enzima Conversora de Angiotensina

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HBB – Beta Hemoglobina

IL6 – Interleucina 6

NOTCH3 - Proteína homóloga do entalhe do locus neurogênico 3

OMS – Organização Mundial da Saúde

PA – Pressão Arterial

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PIC – Pressão Intracraniana

RFLP - Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de restrição

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo Único

STR – Repetições curtas em tandem

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNFA – Fator de Necrose Tumoral A

VNTR – Repetições de número variável em tandem

## Resumo

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é caracterizado como uma disfunção neurológica aguda provocada pela interrupção do fluxo sanguíneo para o encéfalo ou hemorragia para espaço subaracnoide e/ou intraparenquimatoso. São denominados AVE Isquêmico (AVEI) e AVE Hemorrágico (AVEH). Esta doença é responsável por mais de 68 mil mortes todos os anos e chega a ser considerada a principal causa de morte e incapacidade no Brasil, além de acarretar graves efeitos para a economia e sociedade. A ocorrência de AVEH é menor se comparada com o AVEI, porém produz pior prognóstico. Polimorfismos genéticos têm sido associados a fatores de risco por serem mutações não-raras de troca, inserção ou deleção de nucleotídeos, que alteram regiões codantes, não-codantes ou promotoras de genes e produzem diferentes fenótipos. Este estudo objetivou a investigação de possível associação entre polimorfismos dos genes *IL6*, *TNFA* e *ECA* e a ocorrência do AVEH e/ou Aneurisma Intracerebral, a descrição das respectivas frequências alélicas e genótípicas, e a avaliação de diferentes manifestações clínicas e prognósticos de pacientes residentes no Distrito Federal. Após o consentimento dos participantes, fichas clínicas com as variáveis: idade, sexo, tabagismo, etilismo, características bioquímicas, resultados de exames de imagem foram preenchidas e a coleta de sangue venoso dos participantes foi realizada. O DNA foi extraído das amostras e utilizado nas reações de PCR-RFLP para definição das características genéticas. As frequências genótípicas foram estimadas por contagem direta, por meio do programa SPSS versão 23.0. Aplicou-se o teste qui-quadrado para comparação das distribuições das frequências e detecção de possíveis associações dos genótipos entre os grupos caso e controle. Foram consideradas associações com probabilidades menores que 5% ( $P < 0,05$ ). De acordo com os resultados, concluiu-se que, independentemente do polimorfismo, a presença da HAS é um fator de risco para a ocorrência de AVEH/Aneurisma. Além disso, o genótipo GG, do polimorfismo do gene *IL6* -174 G/C, e o alelo D, do polimorfismo do gene *ECA* D/I, foram considerados fatores de risco para a ocorrência de AVEH/Aneurisma. Em contrapartida, o genótipo AG do gene *TNFA* -308 G/A diminuiu o risco para a ocorrência de AVEH/Aneurisma, como um fator de proteção.

Palavras-chave: Acidente Vascular Encefálico; Polimorfismo; *IL6*; *TNFA*; *ECA*.

## Abstract

Stroke is characterized as acute neurological dysfunction caused by disruption of blood flow to the brain or hemorrhage to subarachnoid and/or intraparenchymal space. They are named Ischemic Stroke (IS) and Hemorrhagic Stroke (HS). This disease is responsible for more than 68,000 deaths each year and is considered the leading cause of death and disability in Brazil, and has serious effects on the economy and society. The occurrence of HS is smaller when compared to the IS, but produces a worse prognosis. Genetic polymorphisms have been associated with risk factors because they are non-rare nucleotide exchange, insertion or deletion mutations that alter coding, non-coding or promoter regions of genes and produce different phenotypes. This study aimed to investigate the possible association between polymorphisms of the *IL6*, *TNFA* and *ACE* genes and the occurrence of HS and/or Intracerebral Aneurysm, the description of the respective allelic and genotype frequencies, and the evaluation of different clinical and prognostic manifestations of patients residing in the Federal District. After the consent of the participants, clinical files with the variables: age, sex, smoking, alcohol, biochemical characteristics, results of imaging tests were completed and the venous blood collection of the participants was performed. The DNA was extracted from the samples and used in PCR-RFLP reactions to define the genetic characteristics. The genotypic frequencies were estimated by direct counting, using SPSS software version 23.0. The chi-square test was used to compare frequency distributions and to detect possible associations of genotypes between the case and control groups. Associations with probabilities less than 5% ( $P < 0.05$ ) were considered. According to the results, it was concluded that, regardless of the polymorphism, the presence of SAH is a risk factor for the occurrence of HS/Aneurysm. In addition, the GG genotype of the *IL6* -174 G/C gene polymorphism and the D allele of the *ECA* D/I gene polymorphism were considered risk factors for the occurrence of HS/Aneurysm. In contrast, the genotype AG of the *TNFA*-308 G/A gene decreased the risk for the occurrence of HS/Aneurysm as a protection factor.

Key words: Stroke; Polymorphism; *IL6*; *TNFA*; *ACE*.

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cerebrovasculares foram consideradas uma das maiores responsáveis pelas mortes ocorridas no mundo em 2012 e afetaram 6,7 milhões de pessoas. No Brasil não foi diferente, de acordo com o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), 8,49% dos óbitos ocorreram por doenças cerebrovasculares (VILLELA, KLEIN e DE OLIVEIRA, 2016).

Conforme Belisário e colaboradores (2015), o acidente vascular encefálico considerada a principal forma de doença cerebrovascular, pode ser definida como um déficit neurológico em uma área cerebral secundária a uma lesão vascular prévia, representando um grupo de doenças semelhantes, porém com etiologias diversas. É classificada como isquêmico ou hemorrágico, com maior incidência a partir de 40 anos e sequelas e óbitos a partir de 65 anos. (RADANOVIC, 2000; FURUKAWA, MATHIAS e MARCON, 2011).

O acidente vascular encefálico isquêmico (AVEI) acontece com mais frequência e provoca mais sequelas e graus elevados de dependência dos pacientes em comparação com o acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH), porém sendo este maior causador de mortes pela severidade do evento.

Entretanto, sendo isquêmico ou hemorrágico, o AVE é a maior causa de incapacidade do mundo. Principalmente no primeiro ano após o evento, há grande dificuldade de adaptação e retorno para a rotina diária, tanto para o paciente quanto para sua família (DE SOUZA OLIVEIRA *et al.*, 2013).

## 1.1 Acidente Vascular Encefálico

De acordo com os critérios adotados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), acidente vascular encefálico é causado pela interrupção do fornecimento de sangue para o cérebro e desenvolvimento de quadro de hipóxia devido ao rompimento ou bloqueio de um vaso sanguíneo por um coágulo. Há a interrupção do suprimento de oxigênio e nutrientes, causando danos ao tecido cerebral. Provoca alterações neurológicas e desenvolvimento de sintomas e/ ou sinais em até 24 horas ou levando à morte (FERNANDES *et al.*, 2012).

O AVE é classificado em dois tipos: AVE isquêmico e hemorrágico. O acidente vascular encefálico isquêmico é caracterizado pela diminuição do fluxo sanguíneo no encéfalo, causando perda ou redução das funções neurológicas normais, e tem como principais fatores de risco a hipertensão arterial sistêmica (HAS), *diabetes mellitus* (DM), consumo de cigarro, alcoolismo e cardiopatias (GRAU *et al.*, 2001; SEMPLICINI *et al.*, 2004; BRUNO *et al.*, 2010). O acidente vascular encefálico hemorrágico advém do extravasamento sanguíneo na região encefálica devido à ruptura de um vaso, sendo principalmente associado a HAS (RADANOVIC, 2000).

Devido aos danos irreversíveis posteriores ao AVE e a mortalidade, a prevenção deve ser priorizada. De acordo com a *American Heart Association*, para se manter o sistema cardiovascular saudável e diminuir o risco de AVE, parâmetros foram determinados. O indivíduo não deve ser fumante, manter Índice de Massa Corporal abaixo de 25 kg/m<sup>2</sup>, realizar atividades físicas regularmente, manter índice de colesterol total menor que 200 mg/dL, pressão arterial sistólica até 120 mmHg e diastólica até 80 mmHg, e glicemia em jejum abaixo de 100 mg/dL (ZHANG *et al.*, 2013).

A associação entre AVE e envelhecimento está fortemente associada, 60 a 70% dos casos são de pessoas com mais de 65 anos. Além da idade avançada, o paciente se torna mais dependente devido às sequelas pós-AVE, trazendo mudanças drásticas a qualidade de vida, saúde emocional e psicológica (MARQUES e MARTINS, 2012; SILVA *et al.*, 2016).

No entanto, a terapia para pacientes portadores de AVE tem sofrido significativas modificações. Como exemplo, na África do Sul os hospitais ganharam alguma visibilidade pelo tratamento multidisciplinar dos pacientes com AVE (TRIALISTS'COLLABORATION, 2013; TAYLOR *et al.*, 2016).

Outro exemplo, afim de minimizar a situação de dependência, terapias baseadas em treinamento funcional têm demonstrado resultados positivos na melhora do quadro de dependência gerado pelo AVE. De acordo com a OMS, a qualidade de vida tem como definição: “a percepção do indivíduo da sua posição na vida, no contexto da cultura e sistema de valores nos quais ele vive, e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”. Desta forma, escalas esquematizadas são utilizadas para avaliar as mudanças no quadro clínico e comportamental (BACHA *et al.*, 2016; SUZANO *et al.*, 2016).

### 1.1.1 Fisiopatologia

O encéfalo, localizado na caixa craniana, exige uma alta demanda de nutrientes, principalmente de glicose, e ininterrupto aporte de oxigênio para seu funcionamento adequado. Para isto, deve ser suprido Algo em torno de 50 mL de sangue por minuto para cada 100 g de tecido cerebral. Este fluxo é constante, e só é possível devido a autorregulação do sistema circulatório que mantém as pressões no crânio e no restante do corpo equilibradas (PEREIRA, 2013).

Quando há uma falha neste equilíbrio, diversos processos fisiológicos podem estar associados. Entre eles, o processo inflamatório. As citocinas modulam uma série de eventos fisiológicos e patológicos no organismo humano. São proteínas imunológicas produzidas por leucócitos, macrófagos, entre outras células, na resposta imune e nas reações de fase aguda. A presença de citocinas circulantes no sistema nervoso central pode mediar processos inflamatórios nas paredes dos vasos sanguíneos, agravando o risco de eventos cerebrovasculares (SUNDBERG *et al.*, 2014).

A origem e o tipo de distúrbio vascular são determinantes para definir a fisiopatologia do AVEH. A ruptura de um vaso produz um rápido acúmulo de sangue dentro do parênquima cerebral e devido à hemorragia, sintomas como deterioração ou perda de função neurológica podem ser identificados (FANN *et al.*, 2013).

O equilíbrio metabólico do encéfalo também fica comprometido pela exposição ao sangue, causando citotoxicidade, estresse oxidativo e inflamação. O encéfalo acaba sofrendo pela baixa perfusão de oxigênio devido a pressão de perfusão reduzida (ARONOWSKI e ZHAO, 2011).

Os altos índices de pressão arterial sistólica e diastólica já foram correlacionados com o aumento do risco de doenças cardiovasculares e AVE. As diferentes causas de AVE foram associadas, tanto para níveis altos quanto baixos, com pressão arterial e dano neurológico (ZIS *et al.*, 2013).

O extravasamento de sangue causa a elevação da pressão intracraniana (PIC). Este processo pode acarretar congestão com posterior edema no encéfalo. Com a PIC se igualando com a pressão arterial do restante do corpo, a perfusão do volume sanguíneo para dentro do crânio quase se extingue, privando o tecido encefálico de um aporte metabólico satisfatório (DONNELLY, 2014).

O fluxo arterial insuficiente priva os neurônios e células da glia de adenosina trifosfato (ATP), o que acarreta em morte celular. Além disso, todo o tecido sofre com o edema celular causado pelo acúmulo de sódio, pelo mal funcionamento da bomba de sódio e potássio, dependente de ATP (HOMI, JÚNIOR e VELASCO, 2000).

Aneurismas intracranianos são deformações nas paredes das artérias que irrigam o sistema nervoso central, principalmente a artéria carótida interna e cerebral média, chegando a ser 72,5% mais frequentes nesta região. Geralmente, causam uma hemorragia na região subaracnoide devido à sua ruptura (WANDERLEY FILHO *et al.*, 2013).

A crônica exposição a processos inflamatórios mediados por citocinas pró-inflamatórias unidas a comorbidades como hipertensão arterial podem aumentar a patogênese do aneurisma intracraniano pela degradação da matrix extracelular da parede das artérias (SATHYAN *et al.*, 2015).

### 1.1.2 Classificação Etiológica

#### 1.1.2.1 Acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH)

Atualmente, o AVEH apresenta de 10 a 15% dos casos de AVE (MOTA *et al.*, 2016). Consiste no rompimento de uma artéria intracerebral e consequente extravasamento de sangue, formando um hematoma. A partir deste momento, inicia-se um processo de morte dos neurônios e astrócitos, na área afetada dentro de 24 horas e em menor escala nas semanas seguintes. Em seguida, o tecido sofre um processo inflamatório intenso na tentativa de recuperação da lesão, com edema e constrição dos vasos (ROBINSON *et al.*, 2013).

Esta condição sofre influência de múltiplos fatores, tanto genéticos quanto ambientais (HOPEWELL e CLARKE, 2016). Apesar de ter uma menor incidência, quando comparado com AVEI, a proporção de indivíduos que chegam a óbito em até 30 dias devido ao AVEH é maior, chegando a mais de 30% (ROBINSON *et al.*, 2013).

O AVEH é classificado de acordo com a localização da hemorragia gerada como intracerebral, subaracnóidea, subdural ou epidural. A hemorragia intracerebral produz sintomas a partir da compressão de tecido adjacente e destruição de células. Causa cefaleia grave e depressão da consciência, além de déficits neurológicos. A hemorragia subaracnóidea provoca a elevação da pressão intracraniana, e pode ser complicada por vasoespasma, novo sangramento, extensão do sangue para dentro do tecido cerebral ou hidrocefalia. Geralmente, se manifesta com dor de cabeça, porém sem déficits neurológicos focais. As hemorragias subdural ou epidural costumam ser originadas por trauma, produzindo uma lesão de massa que comprime o cérebro subjacente (GREENBERG *et al.*, 2014).

Um dos tipos mais letais do AVEH vem por meio de uma hemorragia causada por rompimento espontâneo devido a pressão sistêmica descontrolada. Dependendo da localização e do volume de sangue acumulado,

o prognóstico da doença pode ser alterado. Em 30% dos casos, o sangue acaba se deslocando para o restante da caixa craniana, agravando o caso. Em outros casos, a hemorragia pode estar associada a malformações nas artérias e veia, aneurismas intracranianos e medicamentos (BROUWERS *et al.*, 2014).

Apesar do avanço da medicina, a hemorragia subaracnoide é considerada um caso de emergência com altas taxas de mortalidade e morbidade se não tratado rapidamente. Já conseguiram diminuir para 65% o número de sobreviventes após a ruptura da artéria. Apesar disso, comprometimento visual, perda de memória, flexibilidade mental, déficit cognitivo e psicomotor são observados mesmo em casos de bom prognóstico (DA COSTA *et al.*, 2016).

No Reino Unido foi realizado um estudo coorte comparando a mortalidade de pacientes pós-hemorragia intracerebral primária e hemorragia subaracnoide entre os anos de 2000 e 2008. Eles concluíram que a mortalidade de pacientes com até 50 anos é maior depois de uma hemorragia intracerebral quando comparado com uma hemorragia na região subaracnoide. Entretanto, independentemente do tipo de hemorragia, os sobreviventes aumentam o risco à vida após os eventos (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.*, 2013).

#### 1.1.2.2 Acidente vascular encefálico isquêmico (AVEI)

A privação de oxigênio no encéfalo pode acontecer de duas maneiras. Por meio da hipóxia, quando as hemácias não conseguem carregar o oxigênio com a mesma eficiência, ou isquemia, onde o problema não estará mais na hemácia em si, mas no fluxo sanguíneo que, diminuído, priva o tecido encefálico do mesmo oxigênio além de outros nutrientes (LOTÉRIO, 2015).

Após o evento, o encéfalo sofre um estado patológico grave com desequilíbrio inflamatório e iônico. Após o AVEI, evitando-se a morte cerebral, o fluxo retorna aos poucos, em um processo de reperfusão. As células da região em volta do núcleo isquêmico apresentam uma isquemia moderada. Seu funcionamento é prejudicado, mas o dano é reversível após a reperfusão, onde

o oxigênio retorna e as funções de produção de energia se normalizam (BURCU *et al.*, 2016; ROLINDO e OLIVEIRA, 2016).

Para no processo de reperfusão e normalização, os alguns protocolos médicos incentivam a administração de trombolíticos em até 4,5 horas após o AVEI, pois parece ajudar dependendo do caso. Porém, não é uma prática muito difundida pelo receio em dificultar o próprio processo de cura e cicatrização do tecido lesionado. Apenas menos de 5% dos casos de AVEI recebem este tipo de terapia (STRBIAN *et al.*, 2012; SUNDSETH *et al.*, 2014).

Depois que o AVEI é controlado e risco de morte diminui, as sequelas que ficam são o mais importante para o paciente. Paralisia e rigidez muscular, perda de memória, dificuldades na fala e prejuízo sensorial podem estar presentes nos pacientes pós-AVEI, e sem um trabalho de reabilitação, o caso só tende a piorar, prejudicando até a saúde mental do paciente que, antes ativo e independente, agora precisa de cuidados constantes dependendo do caso (ESTRELA-DIAS e PAIS-RIBEIRO, 2014).

## 1.2 Aneurisma intracerebral

Silva e colaboradores (2013), em uma investigação realizada em 2009, relatam que no Hospital de Base de Brasília – DF, 41,5% dos AVEH foram causados por ruptura de aneurisma.

Os aneurismas intracerebrais podem ser definidos como uma dilatação anormal em um ponto da parede das artérias do polígono arterial de Willis. São encontradas em até 6% das autópsias *post mortem*, porém a maioria deles não se rompem, passando toda a vida da pessoa desapercebido. Entretanto, este perfil tem sofrido alterações. 27 mil novos casos de hemorragia subaracnoide nos Estados Unidos são a partir de ruptura de aneurisma e 5 a 15% se desenvolvem para AVEH. A maior parte dos aneurismas acontecem na circulação anterior próximo aos pontos de ramificação arterial, são chamados de aneurisma sacular ou congênito (PINTO e ZAGO, 2000; MAGISTRIS, BAZAK e MARTIN, 2013).

A deformação e abaulamento da parede da artéria para a formação do aneurisma acontece devido a vulnerabilidade desta parede e o aumento do estresse hemodinâmico. A presença de polimorfonucleares, linfócitos e células plasmáticas mediando processos inflamatórios já foi associado com a ausência total da lâmina elástica interna entre a camada íntima e média dos vasos aneurismas dissecados (LOURENÇO *et al.*, 2013).

Padrão ouro para o diagnóstico de aneurisma intracerebral, a angiorressonância magnética também possibilita a reconstrução de vasos, porém apenas para aneurismas clipados e cateterização intra-arterial. Além disso, há a angiotomografia, também utilizada na clipagem de aneurisma e procedimentos endovasculares (FUKUJIMA e GABBAI, 2001).

### **1.3 Prognóstico do paciente pós-AVE**

#### 1.3.1 Escalas de consciência

A partir do momento em que o indivíduo sofre um AVE, é imprescindível que seja feito o atendimento rápido e eficiente para diminuir as sequelas. Após estabilização, a equipe deve avaliar, entre outros pontos, o nível de consciência para formular o prognóstico correto. Neste caso, são usadas escalas especializadas para este fim, capazes de orientar o profissional em seus próximos passos. São escalas mundialmente utilizadas, validadas e imprescindíveis na prática clínica (DE BRITO *et al.*, 2013; ALBAN e CARVALHO, 2016).

Estas escalas são utilizadas tanto para o prognóstico funcional quanto para avaliar o progresso dos pacientes em programas de reabilitação e readaptação funcional (PAWLOWSKI *et al.*, 2013).

A escala de coma de Glasgow foi introduzida pela primeira vez por Teasdale e Jennett em 1974 e desde então se tornou vital para avaliar os estados de consciência alterada de forma mais fidedigna em casos de lesão cerebral traumática. Eles determinaram três aspectos principais que devem ser avaliados para uma compreensão apropriada do estado de saúde comportamental e motora do paciente. A resposta motora, resposta verbal e abertura dos olhos. Os achados são classificados de acordo com o grau de

disfunção e acompanhados em um período de 24 horas, e a evolução do quadro do paciente é visualizado por meio de gráficos. (TEASDALE e JENNETT, 1974; BARKER *et al.*, 2014).

A escala foi produzida na unidade de neurocirurgia do Instituto de Ciências Neurológicas, em Glasgow, Reino Unido. No local eram prestados serviços de atendimento e prognóstico a pacientes com lesão cerebral aguda. O artigo produzido a partir deste estudo foi considerado um dos mais citados do mundo. Mesmo depois de tantos anos, a escala de coma de Glasgow ainda é utilizada nas clínicas e hospitais do mundo todo. Entretanto há o receio de que modificações foram feitas ao longo dos anos. Foram introduzidas técnicas diferentes e novos fatores como confusão mental e intubação, além de formas diferenciadas de avaliação dos resultados (PONCE e LOZANO, 2010).

A escala de Rankin modificada, por sua vez, avalia o grau de deficiência e incapacidade do paciente pós-AVE. É uma simplificação da escala de Rankin original, tornou-se menos subjetiva e mais confiável, além de ser de aplicação mais rápida, cerca de 1,5 minutos (BRUNO *et al.*, 2013). Consiste em uma escala ordinal em que, através das respostas do questionário, se chega a uma pontuação que pode variar de 0 a 6: 0, assintomático; 1, nenhuma deficiência significativa que impeça de desempenhar todas as tarefas e atividades habituais; 2, ligeira deficiência, não é possível executar todas as atividades anteriores, mas capaz de realizar algumas tarefas sem ajuda; 3, deficiência moderada, exige alguma ajuda, mas capaz de andar sem ajuda; 4, deficiência moderada a grave, é incapaz de andar sem ajuda e incapaz de atender às próprias necessidades corporais sem assistência; 5, incapacidade grave, acamado, incontinente e exigindo cuidados de enfermagem e atenção constantes; e 6, a morte (CHENG *et al.*, 2014).

O Índice de Barthel é responsável por classificar o grau de independência funcional do indivíduo, sendo também utilizada em pacientes acometidos de AVE. A escala de pontuação varia de 0 a 100 em que valores inferiores a 45 pontos indicam dependência severa, valores entre 45 e 59 pontos indicam dependência grave, valores entre 60 e 80 pontos indicam dependência moderada e valores a partir de 81 indicam dependência leve (RANGEL, BELASCO e DICCINI, 2013).

Uma extensa gama de publicações vem corroborando a eficiência destas escalas na elucidação do prognóstico e no tratamento das sequelas deixadas pelo AVE, inclusive, muitos estudos feitos nos Brasil (PRASAD e MENON, 1998; SULTER, STEEN e JACQUES DE KEYSER, 1999; WEIR, BRADFORD e LEES, 2003; UYTENBOOGAART *et al.*, 2005; BANKS e MAROTTA, 2007; CINCURA *et al.*, 2009; VIEIRA, GUEDES e BARROS, 2016).

#### **1.4 Epidemiologia**

De acordo com a OMS, quinze milhões de novos casos de AVEH são relatados todo ano, 5,5 milhões casos resultando em morte, a maioria em países desenvolvidos, e cinco milhões resultando em incapacitação. Apesar do número alto de casos relatados, os avanços estão auxiliando o controle de novos casos (SOMARAJAN *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2013; TADA *et al.*, 2014).

Estimativas de 2014 informam que mais de 690.000 norte-americanos por ano sofrem um AVEI. Porém, estes números vêm diminuindo desde 2008, caindo de posição no ranking das principais causas de morte nos Estados Unidos. Esta redução se deve a melhores estratégias de prevenção e o melhor preparo nos primeiros cuidados após o AVE, trabalho que vêm sendo desenvolvido pela *American Heart Association/American Stroke Association* (AHA/ASA) (JAUCH *et al.*, 2013; GO *et al.*, 2014).

Na China, por causa do aumento dos índices demográficos de envelhecimento, o aumento dos casos de AVE também vem se elevando a ponto de se tornar a primeira causa de mortalidade no país. O número de mortes associadas ao AVE já somam uma média de 15 milhões, sendo assim, faz-se urgente compreender esta doença (HE *et al.*, 2014).

Apesar de as doenças cardíacas serem o tipo mais comum de doença vascular no mundo, o AVE já conseguiu ser a forma predominante de doença vascular em muitos países subdesenvolvidos. Sendo assim, lugares como América do Norte, Europa Ocidental e do Norte e Austrália as taxas de mortalidade por doença cardíacas são ligeiramente superiores às taxas por

AVE e o contrário acontece em grande parte da África e Ásia (KIM e JOHNSTON, 2013).

Em países como Estados Unidos, Canadá e Austrália, a taxa de mortalidade começou a reduzir na década de 1960 até estabilizar ao final do século XX. No Brasil, apesar de também apresentar certa redução, ainda possui a quarta maior taxa de mortalidade da América Latina e a primeira causa de morte e incapacidade no país. Tendo em vista estes dados, a OMS entende a importância da prevenção devido ao impacto social e econômico que a doença acarreta para o país. Quase todos os casos podem ser prevenidos educando a população para hábitos de vida mais saudáveis, como, por exemplo, o cigarro, responsável por 1/4 das doenças vasculares. (GARRITANO *et al.*, 2012; SAÚDE, 2014).

Apesar de tudo, em algumas cidades do Brasil foram identificadas quedas nas taxas de mortalidade. Em São Paulo, desde de 1970 este declínio é observado. O número de mortes passou de 200 para 164 homens por 100.000 habitantes de 168 para 130 mulheres por 100.000 habitantes, no caso de adultos brasileiros com 30 anos ou mais (PASSOS *et al.*, 2016).

MINELLI, FEN e MINELLI (2007) encontraram uma taxa de mortalidade reduzida em 20% em Matão, São Paulo, presente em muitos países desenvolvidos. Outro estudo realizado na cidade de Joinville, Santa Catarina demonstrou uma diminuição de 30% na mortalidade em casos de (CABRAL *et al.*, 2009).

Em Porto Alegre foi identificado uma alta prevalência de sobreviventes ao AVE, vendo-se a necessidade de criação de políticas mais eficientes para o cuidado e tratamento desses pacientes. Também identificaram fatores que aumentam o risco de AVE como idade, tabagismo, hipertensão e doença coronariana. Como fator de proteção, maior escolaridade foi associado (COPSTEIN, FERNANDES e BASTOS, 2013).

Caro e colaboradores (2016) afirmaram que em uma população de São Paulo os sobreviventes do AVE com mais de 65 anos relatam sequelas como hemiparesia, locomoção dificultada, alterações cognitivas, depressão, afasia e dependência nos afazeres do cotidiano.

Foi evidenciada uma diminuição significativa no número de hospitalizações por AVEI após a implantação em 2002 do Programa Nacional de Assistência aos Portadores de Hipertensão Arterial Sistêmica (HIPERDIA). Além disso, foi identificada uma redução na incidência de AVEI independentemente de idade e sexo, porém a mortalidade não mostrou o mesmo declínio, especulando-se que por falta de um sistema de saúde emergencial mais eficiente e que abranja toda a população (LOPES *et al.*, 2016).

### 1.5 Fatores de risco

Os fatores de risco para AVE são classificados como modificáveis: HAS (PA > 140 mmHg sistólica ou 90 mmHg), tabagismo, estenose de carótida assintomática, doença arterial periférica, insuficiência cardíaca congestiva, doença cardíaca coronariana, DM, uso de contraceptivos orais, dislipidemia, obesidade, anemia falciforme, sedentarismo e etilismo; e não modificáveis: alterações congênitas, idade avançada, sexo masculino, etnia afrodescendente e histórico familiar (GOLDSTEIN *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2016).

A HAS é o principal fator de risco para AVE, diversos estudos demonstram a relação entre esta doença e a pressão arterial. Valores em torno de 115/75 mmHg elevaram o risco de morte por AVE em até 2 vezes. Metade das mortes dos portadores de HAS no mundo são causadas pelo AVE, sendo a HAS presente em um a cada três adultos (HONG *et al.*, 2013).

Sobre a DM, suas duas principais formas são a tipo 1 e a tipo 2. A DM tipo 1 é a menos frequente, 10% dos casos apenas, e se trata de um quadro de deficiência na produção de insulina pelas células de Langerhans do pâncreas, tornando os pacientes dependentes a doses diárias de insulina sintética. A DM tipo 2 corresponde aos outros 90% dos casos e é causado por resistência a ação da insulina. Pode ser combinado a algum grau de déficit na secreção desta insulina, sendo influenciados por quadros de obesidade e sedentarismo. Alimentação inadequada representa um dos principais fatores de risco, pois a

elevação dos níveis de glicemia pós-prandial pode aumentar a resistência da insulina e, por conseguinte, a chance de se desenvolver a DM (OSELKA e TROSTER, 2000; BOSI *et al.*, 2009; MIRRAHIMI *et al.*, 2014).

A DM tem grande impacto no risco para AVE, adiantando em até 10 a 15 anos a ocorrência deste. Além disso, a DM tipo 2 possui um fator que eleva o risco de AVE ainda mais, a síndrome metabólica e seus componentes. Poucos estudos foram feitos relacionando especificamente a DM tipo 1 (HÄGG *et al.*, 2014).

Khoury e colaboradores (2013) encontraram uma taxa de incidência de AVEI 3 a 4 vezes maior em pacientes com DM. Eles concluem que a DM é um fator de risco de relevante importância para a ocorrência de AVE.

Com relação ao tabagismo, ambos os tipos de AVE, isquêmico e hemorrágico foram associados com a presença desse hábito, independente do sexo do indivíduo. Este risco pode ser aumentado em até duas vezes, estimando-se que o hábito de fumar é responsável por 19% dos casos de AVE (PETERS, HUXLEY e WOODWARD, 2013).

O etilismo não é só fator de risco para a ocorrência de AVE, mas também para o desenvolvimento de patologias hepáticas, convulsões e câncer. De acordo com a OMS, é responsável pela morte de até 2,5 milhões de pessoas por ano, 4% do total de mortes, além de abranger uma extensa faixa etária de 15 a 59 anos (O'KEEFE *et al.*, 2014).

Foi descrito que a prevalência de AVE é maior em homens do que em mulheres, cerca de 41%, e uma incidência de 33%. Porém, os piores prognósticos são encontrados mais em mulheres, acredita-se que pela maior longevidade em comparação aos homens. Sobre diferenças étnicas, cada vez mais estudos estão sendo realizados neste sentido, na tentativa de relacioná-las com a ocorrência de AVE. Os afrodescendentes evidenciam uma maior propensão a sofrer AVE que as outras etnias, aumentando em até duas vezes este risco em afrodescendentes residentes na Inglaterra e País de Gales, e até mais que o dobro naqueles residentes em Bangladesh e Paquistão (BHOPAL *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2014).

Esforços estão sendo movidos a fim de identificar outros fatores relacionados ao AVE. No momento, buscam-se possíveis associações com

obesidade, síndrome metabólica, distúrbios respiratórios do sono, inflamação crônica, patologias renais, alimentação, anticoncepcionais orais, estresse, depressão e poluição aérea (BANG, OVBIAGELE e KIM, 2015).

## 1.6 Polimorfismos genéticos

No início dos anos 80, o Projeto Genoma Humano foi idealizado e consistiu no mapeamento da sequência completa do DNA. Tal conhecimento poderia auxiliar a pesquisa biomédica por meio de uma abordagem genética. Atualmente, o avanço nas tecnologias de sequenciamento reduziu drasticamente o tempo necessário para o trabalho, gerando bancos de dados disponíveis de sequências de DNA, além da possibilidade de sequenciamento de regiões específicas de amostras de vários indivíduos (LANDER et al., 2001; CARRER, BARBOSA e RAMIRO, 2010).

A partir destas novas tecnologias que novos estudos iniciaram como os de polimorfismo genético, considerado um tipo específico de mutação de nucleotídeos, porém, com uma frequência maior na população, de pelo menos 1%. As variações são encontradas tanto nas sequências codantes, como não-codantes ou promotoras dos genes, e pode gerar até consequências fenotípicas diferenciadas (SALAZAR PELAÉZ *et al.*, 2012).

O tipo mais comum de polimorfismo é chamado o polimorfismo de nucleotídeo único ou SNP (*Single nucleotide polymorphism*). Corresponde a 90% dos polimorfismos, e pode ocorrer em um a cada 1000 pares de bases no genoma humano. Apesar de ser alteração de apenas uma base, a depender do local deste SNP, a expressão do gene poderá ser prejudicada, como, por exemplo, trocas nas regiões promotoras e codantes (DE MARQUI, 2015).

Há também os polimorfismos cuja alteração acontece com mais de um nucleotídeo. São os polimorfismos de sequências repetidas: minissatélites ou VNTRs (*variable number tandem repeat*) e microsatélites ou STR (*short tandem repeats*). Os VNTRs são formados por repetições *in tandem* de 10 a 64 pares de base, enquanto que os STRs são repetições de 2 a 9 pares de base. Os SNPs e os STRs são úteis na análise forense para identificação de pessoas

por similaridade de sequências (DA SILVA LEITE *et al.*, 2013). Os VNTRs são comumente utilizados em testes pré-natais, identificação e quantificação de quimerismo pós-transplante, análise genética de doenças, estudos populacionais e caracterização genética (PELLERIN *et al.*, 2016; SAJIB *et al.*, 2016).

Os polimorfismos genéticos vêm sendo estudados quanto a sua relevância no funcionamento de genes ligados a processos biológicos, cuja alteração poderia ou não desencadear ou evitar o desenvolvimento de certas patologias. Entretanto, nem todos os polimorfismos influenciam de forma determinante a produtividade ou funcionalidade do gene, tendo em vista que as variantes alélicas podem ser encontradas tanto na população afetada quanto na não afetada (TELES, 2013).

Com relação ao AVE, observa-se uma influência de cunho hereditário, em torno de 38% dos casos, justificando a busca por associações polimórficas significativas. Porém, estudos revelam que vários genes, individualmente, contribuem para a ocorrência do AVE, mesmo que pouco, e a união destes fatores aumentariam as chances da pessoa ter a doença (HOPEWELL e CLARKE, 2016).

Além disso, alguns distúrbios monogênicos foram associados ao AVE como os genes *APP*, *BRI* e *CST3* para angiopatia amiloide; o gene *NOTCH3* para arteriopatia cerebral autossômica dominante com infartos subcorticais e leucoencefalopatia; o gene *HBB* para anemia falciforme; entre outros.

No Brasil, diversos estudos foram realizados com o intuito de verificar associação entre polimorfismos e AVE, porém as pesquisas se concentraram no AVEI, por isso a importância de realizar estes mesmos estudos com AVEH.

### 1.6.1 Interleucina 6 (IL6)

A interleucina 6 (IL-6) é uma molécula imunorreguladora capaz de induzir a maturação final de linfócitos B para células produtoras de anticorpos (MURAGUCHI *et al.*, 1988). Tanto que receptores para IL-6 são produzidos apenas em linfócitos B quando ativos. Porém, linfócitos T também expressam

receptores para IL-6, inclusive podem ser efetivos com este tipo celular ainda inativo (TETSUYA TAGA e TOSHIO HIRANO, 1987). IL-6 também está presente em doenças inflamatórias em níveis elevados e demonstrado um importante papel na prevalência de doenças crônicas (GABAY, 2006).

O polimorfismo do gene *IL6* -174 G/C (rs1800795), localizado na posição 7p21 do cromossomo 7 (SHENHAR-TSARFATY *et al.*, 2010), por ser na região promotora, afeta a produção e, conseqüentemente, os níveis séricos da citocina. Consiste na troca de uma base nitrogenada guanina (G) por uma citosina (C) em uma ou ambas as cópias do gene. Foi descrito pela primeira vez por Fishman e colaboradores (1998), que apontaram a presença do alelo C associada a menor produção de IL6 que o alelo G, corroborando os resultados encontrados de que o genótipo CC seria um fator protetor contra desenvolvimento de artrite reumatoide juvenil.

Yang e colaboradores (2014) afirmaram que o genótipo *IL6* -174 CC e o alelo C podem estar associados com risco do paciente em sofrer um AVEI e que este polimorfismo interage com hipertensão, estando mais presente nos pacientes com genótipo CC, entre outras comorbidades. Ozkan e colaboradores (2015) também descobriu a mesma associação, em que o genótipo CC aumentaria o risco de AVEI em uma população da Turquia.

Entretanto, Titov e colaboradores (2011) descobriram uma significativa associação entre o alelo G como fator de risco para AVEI em um grupo de pessoas com descendência russa. Uma revisão sistemática revelou mais resultados conflitantes, o que pode ser explicado pela complexa ação fisiológica do IL-6 em populações distintas com adicionais fatores influenciadores (TSO, MERINO e WARACH, 2007)

### 1.6.2 *Tumor necrosis factor alpha (TNFA)*

O TNF- $\alpha$  é uma proteína constituída por 157 aminoácidos, cujo gene se localiza no cromossomo 6. Está envolvida em processos inflamatórios, apoptose, infecções graves e câncer (BEMELMANS, VAN TITS e BUURMAN, 1996). Além disso, TNF- $\alpha$  é capaz de ativar enzimas proteolíticas que

danificam as células endoteliais resultando na ruptura de um aneurisma e conseqüentemente a ocorrência de AVEH (STOLL, JANDER e SCHROETER, 1998). Estudos apontam o aumento da citocina sérica relacionado ao maior risco de AVE, por serem alterações na região promotora do gene TNFA (CUI *et al.*, 2012).

O polimorfismo do gene *TNFA* -308 G/A (rs1800629) consiste na troca da base nitrogenada guanina (G) por uma adenina (A), sendo que os resultados têm sido discrepantes entre as populações. O gene está localizado na posição 6p21.33 do cromossomo 6 (PENNICA *et al.*, 1984).

Ao mesmo tempo que em uma população de jovens cuja ancestralidade é europeia a presença do alelo A elevou o risco de AVE, em uma população de adultos asiáticos o efeito foi contrário, um efeito protetor para os portadores do alelo A (PEREIRA *et al.*, 2007).

O genótipo AG já demonstrou ter um efeito protetor quanto a AVEI em uma população chinesa (TONG *et al.*, 2010). Por outro lado, um estudo realizado na Índia não encontrou associação estatística entre o genótipo e o AVEI (SULTANA *et al.*, 2011).

Gu e colaboradores (2013) realizou uma meta-análise cujos resultados foram contrastantes. Foram realizadas as análises utilizando os modelos genéticos A versus G, AG versus GG e AA+AG versus GG para verificar a relação entre o polimorfismo e AVEI. No geral, não foi encontrado associação, porém, quando estratificaram as análises pelas etnias, um caráter protetor foi encontrado em uma população asiática e nenhuma com a população caucasiana. Em uma população de jovens estes cruzamentos demonstraram risco e em uma população de adultos, caracterizou-se proteção.

### 1.6.3 Enzima conversora de Angiotensina (ECA)

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é uma zinco metalopeptidase transmembranar, que tem como função principal o metabolismo de peptídeos vasoativos. Converte a angiotensina I em angiotensina II, um potente vasoconstritor, e inativa a bradicinina (JASPARD,

WEI e ALHENC-GELAS, 1993). Seu gene está localizado no braço longo do cromossomo 17 na posição 17q23 (HUBERT *et al.*, 1991).

O polimorfismo está relacionado a uma sequência de 287 pares de base no íntron 16 do gene da ECA e consiste na deleção (D) ou na inserção (I) desta sequência originando os genótipos DD, DI e II. Foi observada uma variação na atividade sérica da enzima em caucasianos e asiáticos: indivíduos com genótipo DD possuem a maior atividade sérica da ECA e em contrapartida os indivíduos com genótipo II possuem a atividade mais baixa. Consequentemente, os indivíduos com genótipo DI apresentam uma atividade intermediária (RIGAT *et al.*, 1990).

Uma meta-análise realizada por Sharma (1998) mostrou que o alelo D age de forma modesta como um fator de risco para AVEI. Outro estudo concluiu a mesma associação, mas agora em uma população hipertensa (KARIO *et al.*, 1996).

Rigat e colaboradores (1990) apresentaram, em um artigo já bastante citado no meio acadêmico, uma clara relação entre a presença do alelo D e maiores níveis de ECA no plasma de uma população de caucasianos franceses. Inclusive com valores duplicados e concentração em indivíduos homozigotos. O mesmo padrão associativo foi encontrado, entre o alelo D e a incidência de AVE em uma população do sul da Índia (MUNSHI *et al.*, 2008). Além disso, um grupo de pesquisadores brasileiros observou que o alelo I garantiu um maior decaimento da pressão arterial diastólica em indivíduos da cidade de Sergipe (MANUELLA DE OLIVEIRA FERNANDES, 2015).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Investigar possível associação entre os polimorfismos dos genes *IL6*, *TNFA* e *ECA* e a ocorrência do AVEH e/ou aneurisma intracerebral.

### 2.2 Objetivos específicos

- Descrever as frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos *IL6* -174 G/C, *TNFA* -308 G/A e *ECA* D/I nos participantes do estudo.
- Avaliar os diferentes achados documentados nos exames de tomografia computadorizada e o prognóstico dos participantes da pesquisa, por meio das escalas de consciência, com AVEH e/ou aneurisma intracerebral;
- Analisar a associação dos polimorfismos *IL6* -174 G/C, *TNFA* -308 G/A e *ECA* D/I e a ocorrência do AVEH e/ou aneurisma intracerebral residentes no Distrito Federal (Brasil);
- Analisar a associação entre os polimorfismos *IL6* -174 G/C, *TNFA* -308 G/A e *ECA* D/I com manifestações clínicas (diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo e etilismo); com os achados documentados nos exames de tomografia computadorizada e o prognóstico de e/ou aneurisma intracerebral.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Delineamento**

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

#### **3.2 Campo de estudo**

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

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

O material biológico (sangue) dos participantes foi levado ao Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Bioprospecção e Neurociências (Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília), onde foi estocado à 80°C negativos sob a guarda da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari para realização da extração do DNA das amostras e os exames para verificação dos polimorfismos genéticos. Esse material biológico foi fracionado, e armazenado no Laboratório de Pesquisa em Genética Molecular, sob responsabilidade do professor Dr. Luzitano Brandão Ferreira e no Laboratório de Análises Clínicas,

seção de Patologia Molecular, sob a tutela da professora Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

### **3.3 Amostra**

Os participantes da pesquisa foram divididos em grupo caso e grupo controle. O grupo caso teve como critérios de inclusão: pacientes de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, com diagnóstico de AVEH e/ou aneurisma intracerebral, admitidos no período de 1 de janeiro de 2011 a 31 de dezembro de 2012, com diagnóstico de AVEH e ou aneurisma intracerebral comprovado por meio de tomografia computadorizada.

Os critérios de exclusão foram menores de 18 anos, indivíduos que não apresentaram diagnóstico de AVEH e/ou aneurisma intracerebral e indivíduos que não desejaram participar da pesquisa ou representantes legais que não consentiram em participar. A autorização ética para pesquisa foi para no máximo 200 participantes do grupo caso. Dados foram obtidos a partir dos prontuários dos pacientes.

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

Os critérios de exclusão foram indivíduos menores de 18 anos, parentes de indivíduos com AVEH e/ou aneurisma intracerebral e indivíduos que não desejaram participar da pesquisa. A autorização ética para pesquisa foi para no máximo 200 participantes do grupo controle, sendo que este grupo foi pareado por sexo e idade em relação ao grupo caso.

No período do estudo foram identificados 112 indivíduos portadores de AVEH e/ou aneurisma, porém devido à ausência de informações clínicas relevantes no seu prontuário e a necessidade de homogeneidade de características basais com o grupo controle selecionado, o tamanho amostral

do grupo caso foi reduzido para 81 indivíduos. Destes, 48 (59,3%) pacientes eram portadores de AVEH e 33 (40,7%) pacientes de aneurisma (Tabela 1).

Tabela 1. Tamanho amostral do grupo caso, dividido em AVEH e Aneurisma.

Desfecho	N	%
AVEH	48	59,3
Aneurisma	33	40,7
Total	81	100,0

Assim, a avaliação da homogeneidade quanto ao sexo e a idade dos grupos de estudo estão descritas nas tabelas 2 e 3, respectivamente. A tabela 2 avalia a associação do sexo em relação ao AVEH/Aneurisma. Foi observado que no grupo AVEH/Aneurisma 59,3% dos participantes eram do sexo feminino contra 53,1% do grupo controle. Não houve diferença estatística, entre os grupos de estudo, na proporção do sexo ( $P=0,429$ )

Tabela 2. Associação entre sexo e grupos caso e controle.

	Grupos				P	OR	IC
	AVEH/Aneurisma		Controle				
	N	%	N	%			
feminino	48	59,3%	43	53,1%	0,429	1,29	(0,69 - 2,39)
Sexo masculino	33	40,7%	38	46,9%			
Total	81	100,0%	81	100,0%			

A tabela 3 descreve a diferença de médias de idade entre os grupos caso e controle. A média de idade dos participantes do grupo AVEH/Aneurisma foi de 53,49, e 52,6 do para controle. Apesar dos valores diferentes, não houve diferença estatística entre os grupos.

Tabela 3. Associação entre idade e grupos caso e controle.

	Grupos				
	AVEH/Aneurisma		Controle		
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Idade	53,49	5,94	52,27	5,75	0,185

A tabela 4 avalia a associação entre as características clínicas e a ocorrência de AVE. Nota-se que 74,1% dos participantes do grupo caso apresentaram HAS contra apenas 9,9% no grupo controle, tal evidência apresentou diferença estatística ( $P < 0,001$ ) sendo considerada a presença da HAS um fator de risco para a ocorrência de AVEH/Aneurisma, este fator de risco aumenta a chance para a ocorrência do desfecho em até 26 vezes ( $OR = 26$ ). As demais características não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Em relação a Diabetes, no grupo caso 3,7% dos participantes eram portadores de Diabetes contra nenhum do grupo controle. Avaliando-se a característica tabagismo, 39,5% do grupo caso era tabagista, contra 29,6% do grupo controle. Com relação ao etilismo, 27,2% dos participantes do grupo caso apresentavam etilismo, contra 24,7% do grupo controle.

Tabela 4. Características clínicas associadas aos grupos caso e controle.

		Grupos				P	OR	IC
		AVEH/Aneurisma		Controle				
		N	%	N	%			
HAS	sim	60	74,1%	8	9,9%	<0,001*	26,0	(10,78 - 63,05)
	não	21	25,9%	73	90,1%			
	Total	81	100,0%	81	100,0%			
Diabetes	sim	3	3,7%	0	0,0%	0,245	NA	NA
	não	78	96,3%	81	100,0%			
	Total	81	100,0%	81	100,0%			
Tabagismo	sim	32	39,5%	24	29,6%	0,186	1,55	(0,81 - 2,98)
	não	49	60,5%	57	70,4%			
	Total	81	100,0%	81	100,0%			
Etilismo	sim	22	27,2%	20	24,7%	0,720	1,14	(0,56 - 2,30)
	não	59	72,8%	61	75,3%			
	Total	81	100,0%	81	100,0%			

\* diferença estatística

NA = não se aplica

### 3.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

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

### **3.5 Termo de Guarda de Material Biológico**

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

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

#### 4 REFERENCES

- ALBAN, F. S.; CARVALHO, Y. L. D. Aplicação das escalas de escore de trauma por equipes do atendimento pré-hospitalar. 2016.
- ARONOWSKI, J.; ZHAO, X. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage secondary brain injury. **Stroke**, v. 42, n. 6, p. 1781-1786, 2011.
- BACHA, J. M. R. *et al.* . Impacto do treinamento sensório-motor com plataforma vibratória no equilíbrio e na mobilidade funcional de um indivíduo idoso com sequela de acidente vascular encefálico: relato de caso. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 23, n. 1, p. 111-116, 2016.
- BANG, O. Y.; OVBIAGELE, B.; KIM, J. S. Nontraditional Risk Factors for Ischemic Stroke An Update. **Stroke**, v. 46, n. 12, p. 3571-3578, 2015.
- BANKS, J. L.; MAROTTA, C. A. Outcomes Validity and Reliability of the Modified Rankin Scale: Implications for Stroke Clinical Trials. **A Literature Review and Synthesis**, v. 38, n. 3, p. 1091-1096, 2007.
- BARKER, M. D. *et al.* . Application and clinical utility of the Glasgow coma scale over time: a study employing the NIDRR traumatic brain injury model systems database. **The Journal of head trauma rehabilitation**, v. 29, n. 5, p. 400-406, 2014.
- BELISÁRIO, A. R. *et al.* . Association of alpha-thalassemia, TNF-alpha (-308G>A) and VCAM-1 (c.1238G>C) gene polymorphisms with cerebrovascular disease in a newborn cohort of 411 children with sickle cell anemia. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 54, n. 1, p. 44-50, 2015.
- BEMELMANS, M. H.; VAN TITS, L. J.; BUURMAN, W. A. Tumor necrosis factor: function, release and clearance. **Crit Rev Immunol**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 1996.
- BHOPAL, R. *et al.* . Ethnic variations in the incidence and mortality of stroke in the Scottish Health and Ethnicity Linkage Study of 4.65 million people. **European journal of preventive cardiology**, v. 19, n. 6, p. 1503-1508, 2012.
- BOSI, P. L. *et al.* . Prevalência de diabetes melito e tolerância à glicose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos, São Paulo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 6, p. 726-32, 2009.
- BRIGITTE RIGAT, C. H., FRANCOIS ALHENC-GELAS, FRANMOIS CAMBIEN, PIERRE CORVOL, FLORENT SOUBRIER. An Insertion/Deletion Polymorphism in the Angiotensin I-converting Enzyme Gene Accounting for Half the Variance of Serum Enzyme Levels. **J. Clin. Invest**, v. 86, n. 4, p. 1343-1346, 1990.

BROUWERS, H. B. *et al.* . Predicting hematoma expansion after primary intracerebral hemorrhage. **JAMA neurology**, v. 71, n. 2, p. 158-164, 2014.

BRUNO, A. *et al.* . Simplified modified Rankin Scale questionnaire correlates with stroke severity. **Clinical rehabilitation**, p. 0269215512470674, 2013.

BRUNO, A. *et al.* . Diabetes Mellitus, Acute Hyperglycemia, and Ischemic Stroke. **Current Treatment Options in Neurology**, v. 12, n. 6, p. 492-503, 2010.

BURCU, G. B. *et al.* . The protective cardiac effects of B-myrcene after global cerebral ischemia/reperfusion in C57BL/J6 mouse. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 31, n. 7, p. 456-462, 2016.

CABRAL, N. L. *et al.* . Trends in stroke incidence, mortality and case fatality rates in Joinville, Brazil: 1995–2006. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 80, n. 7, p. 749-754, 2009.

CARO, C. C. *et al.* . Independence and cognition post-stroke and its relationship to burden and quality of life of family caregivers. **Topics in Stroke Rehabilitation**, p. 1-6, 2016.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.

CHENG, B. *et al.* . Influence of stroke infarct location on functional outcome measured by the modified rankin scale. **Stroke**, v. 45, n. 6, p. 1695-1702, 2014.

CINCURA, C. *et al.* . Validation of the National Institutes of Health Stroke Scale, modified Rankin Scale and Barthel Index in Brazil: the role of cultural adaptation and structured interviewing. **Cerebrovascular Diseases**, v. 27, n. 2, p. 119-122, 2009.

COPSTEIN, L.; FERNANDES, J. G.; BASTOS, G. A. N. Prevalence and risk factors for stroke in a population of Southern Brazil. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 71, n. 5, p. 294-300, 2013.

CUI, G. *et al.* . Polymorphism of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene promoter, circulating TNF-alpha level, and cardiovascular risk factor for ischemic stroke. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 235, 2012.

DA COSTA, L. *et al.* . Increased Frontal Lobe Activation After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. **Stroke**, p. STROKEAHA. 116.013786, 2016.

DA SILVA LEITE, V. *et al.* . Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, v. 10, n. 34, p. 21, 2013.

DE BRITO, R. G. *et al.* . Instrumentos de avaliação funcional específicos para o acidente vascular cerebral. 2013.

DE MARQUI, A. B. T. Síndrome de Turner e polimorfismo genético: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 3, p. 364-371, 2015.

DE SOUZA OLIVEIRA, A. R. *et al.* . Competências essenciais de programas de assistência domiciliar para pacientes com acidente vascular cerebral. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 15, n. 2, p. 317-25, 2013.

DONNELLY, M. K. **Role of cytochrome p450 fatty acid metabolism in the pathophysiology of subarachnoid hemorrhage**. 2014. University of Pittsburgh

ESTRELA-DIAS, M.; PAIS-RIBEIRO, J. L. Intervenção psicológica positiva em grupo: forças e virtudes na reabilitação pós-AVC= Positive psychological group intervention: strengths and virtues in rehabilitation after stroke. 2014.

FANN, D. Y.-W. *et al.* . Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes. **Ageing research reviews**, v. 12, n. 4, p. 941-966, 2013.

FERNANDES, T. G. *et al.* . Early stroke case-fatality rates in three hospital registries in the Northeast and Southeast of Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 70, p. 869-873, 2012.

FISHMAN, D. *et al.* . The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. **J Clin Invest**, v. 102, n. 7, p. 1369-76, 1998.

FUKUJIMA, M. M.; GABBAI, A. A. Recomendações nos Casos de Aneurisma Cerebral Não Roto. **Rev. Neurociências** v. 9, n. 1, p. 32-35, 2001.

FURUKAWA, T. S.; MATHIAS, T. A. D. F.; MARCON, S. S. Mortalidade por doenças cerebrovasculares por residência e local de ocorrência do óbito: Paraná, Brasil, 2007. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, p. 327-334, 2011.

GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis research & therapy**, v. 8, n. 2, p. S3, 2006.

GARRITANO, C. R. *et al.* . Análise da tendência da mortalidade por acidente vascular cerebral no Brasil no século XXI. **Arq Bras Cardiol**, v. 98, n. 6, p. 519-27, 2012.

GO, A. S. *et al.* . Heart disease and stroke statistics-2014 update. **Circulation**, v. 129, n. 3, 2014.

GOLDSTEIN, L. B. *et al.* . Guidelines for the Primary Prevention of Stroke. **A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association**, v. 42, n. 2, p. 517-584, 2011.

GONZÁLEZ-PÉREZ, A. *et al.* . Mortality after hemorrhagic stroke Data from general practice (The Health Improvement Network). **Neurology**, v. 81, n. 6, p. 559-565, 2013.

GRAU, A. J. *et al.* . Risk Factors, Outcome, and Treatment in Subtypes of Ischemic Stroke. **The German Stroke Data Bank**, v. 32, n. 11, p. 2559-2566, 2001.

GU, L. *et al.* . The Role of TNF- $\alpha$  308G &gt; A Polymorphism in the Risk for Ischemic Stroke. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 345, n. 3, p. 227-233, 2013.

HÄGG, S. *et al.* . Different risk factor profiles for ischemic and hemorrhagic stroke in type 1 diabetes mellitus. **Stroke**, v. 45, n. 9, p. 2558-2562, 2014.

HE, Q. *et al.* . Trends in in-hospital mortality among patients with stroke in China. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e92763, 2014.

HOMI, H. M.; JÚNIOR, S.; VELASCO, I. T. Fisiopatologia da isquemia cerebral. **Rev. bras. anesthesiol**, v. 50, n. 5, p. 405-14, 2000.

HONG, K.-S. *et al.* . Stroke statistics in Korea: part I. Epidemiology and risk factors: a report from the korean stroke society and clinical research center for stroke. **Journal of stroke**, v. 15, n. 1, p. 2-20, 2013.

HOPEWELL, J. C.; CLARKE, R. Emerging Risk Factors for Stroke What Have We Learned From Mendelian Randomization Studies? **Stroke**, v. 47, n. 6, p. 1673-1678, 2016.

HUBERT, C. *et al.* . Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 23, p. 15377-15383, 1991.

JASPARD, E.; WEI, L.; ALHENC-GELAS, F. Differences in the properties and enzymatic specificities of the two active sites of angiotensin I-converting enzyme (kininase II). Studies with bradykinin and other natural peptides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 13, p. 9496-9503, 1993.

JAUCH, E. C. *et al.* . Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**, v. 44, n. 3, p. 870-947, 2013.

KARIO, K. *et al.* . Ischemic Stroke and the Gene for Angiotensin-Converting Enzyme in Japanese Hypertensives. **Circulation**, v. 93, n. 9, p. 1630-1633, 1996.

KHOURY, J. C. *et al.* . Diabetes Mellitus A risk factor for ischemic stroke in a large biracial population. **Stroke**, v. 44, n. 6, p. 1500-1504, 2013.

KIM, A. S.; JOHNSTON, S. C. Temporal and geographic trends in the global stroke epidemic. **Stroke**, v. 44, n. 6 suppl 1, p. S123-S125, 2013.

KUMAR, A. *et al.* . Identification of genetic contribution to ischemic stroke by screening of single nucleotide polymorphisms in stroke patients by using a case control study design. **BMC neurology**, v. 13, n. 1, p. 1, 2013.

LANDER, E. S. *et al.* . Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860-921, 2001.

LOPES, J. M. *et al.* . Hospitalization for ischemic stroke in Brazil: an ecological study on the possible impact of Hiperdia. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 1, p. 122-134, 2016.

LOTERIO, F. A. Análise do padrão de ativação muscular de indivíduos hemiparéticos pós-AVC em marcha assistida por andador robótico. 2015.

LOURENÇO, S. *et al.* . Modelo experimental estável de aneurisma sacular em artéria carótida de suínos utilizando veia jugular interna. **Cirurgiões**, v. 40, n. 2, p. 130-136, 2013.

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

MANUELLA DE OLIVEIRA FERNANDES, L. M. A., SILVIO SANTANA DOLABELLA, EMERSON PARDONO Influência do polimorfismo I/D do gene da eca na HPE de jovens normotensos. . **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 21, n. 4, p. 308-312, 2015.

MARQUES, F. M. L. A.; MARTINS, R. M. L. **Independência funcional do doente pós AVC**. 2012. Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior de Saúde de Viseu

MINELLI, C.; FEN, L. F.; MINELLI, D. P. C. Stroke Incidence, Prognosis, 30-Day, and 1-Year Case Fatality Rates in Matão, Brazil A Population-Based Prospective Study. **Stroke**, v. 38, n. 11, p. 2906-2911, 2007.

MIRRAHIMI, A. *et al.* . The role of glycemic index and glycemic load in cardiovascular disease and its risk factors: a review of the recent literature. **Current atherosclerosis reports**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2014.

MOTA, D. V. N. *et al.* . Mirror therapy for upper limb rehabilitation in chronic patients after stroke. **Fisioterapia em Movimento**, v. 29, n. 2, p. 287-293, 2016.

MUNSHI, A. *et al.* . Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and the risk of ischemic stroke in a South Indian population. **Journal of the neurological sciences**, v. 272, n. 1, p. 132-135, 2008.

MURAGUCHI, A. *et al.* . The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. **J Exp Med**, v. 167, n. 2, p. 332-44, 1988.

O'KEEFE, J. H. *et al.* . Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison... or the remedy. *Mayo Clinic Proceedings*, 2014. Elsevier. p.382-393.

OSELKA, G.; TROSTER, E. J. Aspectos éticos do atendimento médico do adolescente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 306-307, 2000.

OZKAN, A. *et al.* . Tumour necrosis factor alpha, interleukin 10 and interleukin 6 gene polymorphisms of ischemic stroke patients in south Marmara region of Turkey. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 8, n. 10, p. 13500, 2015.

PASSOS, V. *et al.* . Consistent declining trends in stroke mortality in Brazil: mission accomplished? **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 74, n. 5, p. 376-381, 2016.

PAWLOWSKI, J. *et al.* . Avaliação neuropsicológica breve de adultos pós-acidente vascular cerebral em hemisfério esquerdo. **Avances en Psicología Latinoamericana**, v. 31, n. 1, p. 33-45, 2013.

PELLERIN, C. *et al.* . A Simple Variable Number of Tandem Repeat-Based Genotyping Strategy for the Detection of Handling Errors and Validation of Sample Identity in Biobanks. **Biopreservation and Biobanking**, 2016.

PENNICA, D. *et al.* . Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. **Nature**, v. 312, n. 5996, p. 724-9, 1984.

PEREIRA, B. J. A. Impacto da introdução do microdoppler vascular para a avaliação do fluxo sanguíneo cerebral durante a microcirurgia de aneurismas intracranianos. 2013.

PEREIRA, T. V. *et al.* . Effect of the G-308A polymorphism of the tumor necrosis factor  $\alpha$  gene on the risk of ischemic heart disease and ischemic stroke: A meta-analysis. **American Heart Journal**, v. 153, n. 5, p. 821-830, 2007.

PETERS, S. A.; HUXLEY, R. R.; WOODWARD, M. Smoking as a risk factor for stroke in women compared with men A systematic review and meta-analysis of 81 cohorts, including 3 980 359 individuals and 42 401 strokes. **Stroke**, v. 44, n. 10, p. 2821-2828, 2013.

PINTO, M. H.; ZAGO, M. M. F. A compreensão do significado cultural do aneurisma cerebral e do tratamento atribuídos pelo paciente e familiares: um estudo etnográfico. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 8, n. 1, p. 51-56, 2000.

PONCE, F. A.; LOZANO, A. M. Highly cited works in neurosurgery. part ii: the citation classics: A review. **Journal of neurosurgery**, v. 112, n. 2, p. 233-246, 2010.

PRASAD, K.; MENON, G. R. Comparison of the Three Strategies of Verbal Scoring of the Glasgow Coma Scale in Patients with Stroke. **Cerebrovascular Diseases**, v. 8, n. 2, p. 79-85, 1998.

RADANOVIC, M. Características do atendimento de pacientes com acidente vascular cerebral em hospital secundário. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 58, p. 99-106, 2000.

RANGEL, E. S. S.; BELASCO, A. G. S.; DICCINI, S. Qualidade de vida de pacientes com acidente vascular cerebral em reabilitação. **Acta paul enferm**, v. 26, n. 2, p. 205-12, 2013.

RIGAT, B. *et al.* . An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **Journal of Clinical Investigation**, v. 86, n. 4, p. 1343, 1990.

ROBINSON, S. R. *et al.* . Hemin toxicity: a preventable source of brain damage following hemorrhagic stroke. **Redox Report**, 2013.

RODRIGUES, E. S. R. *et al.* . Fatores de risco cardiovascular em pacientes com acidente vascular cerebral. **AMAZÔNIA: SCIENCE & HEALTH**, v. 1, n. 2, p. 21-28, 2013.

RODRIGUES, E. S. R. *et al.* . Fatores de risco para doenças ateroscleróticas cardiovasculares em escolares: uma ação preventiva primária. Relato de experiência. **AMAZÔNIA: SCIENCE & HEALTH**, v. 4, n. 2, p. 16-26, 2016.

ROLINDO, S. J. S.; OLIVEIRA, L. T. ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO: REVISÃO SISTEMÁTICA DOS ASPECTOS ATUAIS DO TRATAMENTO NA FASE AGUDA. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 3, n. 3, p. 18-26, 2016.

SAJIB, A. *et al.* . Phylogenetic analysis of Bangladeshi population with reference to D1S80 VNTR locus. **Biores Comm**, v. 2, n. 1, p. 146-151, 2016.

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

SATHYAN, S. *et al.* . Pathogenesis of intracranial aneurysm is mediated by proinflammatory cytokine TNFA and IFNG and through stochastic regulation of IL10 and TGFB1 by comorbid factors. **J Neuroinflammation**, v. 12, p. 135, 2015.

SAÚDE, P. D. Tabagismo: Quais são as doenças causadas pelo uso do cigarro? , 2014. Disponível em:

<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/links-de-interesse/317-tabagismo/9257-quais-sao-as-doencas-causadas-pelo-uso-do-cigarro>>.

SEMPPLICINI, A. *et al.* . Hypertension in acute ischemic stroke: A compensatory mechanism or an additional damaging factor? **Cardiovascular reviews & reports**, v. 25, n. 2, p. 51-57, 2004.

SHARMA, P. Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 64, n. 2, p. 227-230, 1998.

SHENHAR-TSARFATY, S. *et al.* . Interleukin-6 as an early predictor for one-year survival following an ischaemic stroke/transient ischaemic attack. **Int J Stroke**, v. 5, n. 1, p. 16-20, 2010.

SILVA, I. F. G. D. *et al.* . Viver e Cuidar Após o Acidente Vascular Cerebral. **Revista de Enfermagem Referência**, n. 8, p. 103-111, 2016.

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

SOMARAJAN, B. *et al.* . Evaluation of MTHFR C677T polymorphism in ischemic and hemorrhagic stroke patients. A case–control study in a Northern Indian population. **Journal of the neurological sciences**, v. 304, n. 1, p. 67-70, 2011.

STOLL, G.; JANDER, S.; SCHROETER, M. Inflammation and glial responses in ischemic brain lesions. **Prog Neurobiol**, v. 56, n. 2, p. 149-71, 1998.

STRBIAN, D. *et al.* . Symptomatic intracranial hemorrhage after stroke thrombolysis: the SEDAN score. **Annals of neurology**, v. 71, n. 5, p. 634-641, 2012.

SULTANA, S. *et al.* . Tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke in south Indian population. **J Genet**, v. 90, n. 2, p. 361-4, 2011.

SULTER, G.; STEEN, C.; JACQUES DE KEYSER. Use of the Barthel Index and Modified Rankin Scale in Acute Stroke Trials. **Stroke**, v. 30, n. 8, p. 1538-1541, 1999.

SUNDBERG, T. B. *et al.* . Small-molecule control of cytokine function: new opportunities for treating immune disorders. **Curr Opin Chem Biol**, v. 23C, p. 23-30, 2014.

SUNDSETH, A. *et al.* . Factors related to knowledge of stroke symptoms and risk factors in a Norwegian stroke population. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 23, n. 7, p. 1849-1855, 2014.

SUZANO, D. S. *et al.* . A IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DE VIDA EM PACIENTES HIPERTENSOS. **Saúde em Redes**, v. 2, n. 1, p. 53-63, 2016.

TADA, H. *et al.* . Twelve–Single Nucleotide Polymorphism Genetic Risk Score Identifies Individuals at Increased Risk for Future Atrial Fibrillation and Stroke. **Stroke**, v. 45, n. 10, p. 2856-2862, 2014.

TAYLOR, A. *et al.* . Advances in stroke treatment are within reach. **South African Medical Journal**, v. 106, n. 5, p. 454-455, 2016.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale. **The Lancet**, v. 304, n. 7872, p. 81-84, 1974.

TELES, P. D. B. Polimorfismo genético da apolipoproteína E e avaliação sociodemográfica em pacientes com periodontite crônica. 2013.

TETSUYA TAGA, Y. K., RICHARD HARDY; TOSHIO HIRANO, T. K. Receptors for B cell stimulatory factor 2. Quantitation, specificity, distribution, and regulation of their expression. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 166, n. 4, p. 967-981, 1987.

TITOV, B. *et al.* . Polymorphic variants of genes encoding interleukin-6 and fibrinogen, the risk of ischemic stroke and fibrinogen levels. **Molekuliarnaia biologiiia**, v. 46, n. 1, p. 93-102, 2011.

TONG, Y. *et al.* . The role of functional polymorphisms of the TNF-alpha gene promoter in the risk of ischemic stroke in Chinese Han and Uyghur populations: Two case-control studies. **Clin Chim Acta**, v. 411, n. 17-18, p. 1291-5, 2010.

TRIALISTS'COLLABORATION, S. U. Organised inpatient (stroke unit) care for stroke. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 9, 2013.

TSO, A. R.; MERINO, J. G.; WARACH, S. Interleukin-6 174G/C polymorphism and ischemic stroke: a systematic review. **Stroke**, v. 38, n. 11, p. 3070-5, 2007.

UYTTENBOOGAART, M. *et al.* . Optimizing Cutoff Scores for the Barthel Index and the Modified Rankin Scale for Defining Outcome in Acute Stroke Trials. **Stroke**, v. 36, n. 9, p. 1984-1987, 2005.

VIEIRA, L. A.; GUEDES, M. V. C.; BARROS, A. A. Aplicação das Escalas de Glasgow, Braden e Rankin em pacientes acometidos por acidente vascular encefálico. **Revista de enfermagem UFPE on line-ISSN: 1981-8963**, v. 10, n. 5, p. 4226-4232, 2016.

VILLELA, P. B.; KLEIN, C. H.; DE OLIVEIRA, G. M. M. Evolução da Mortalidade por Doenças Cerebrovasculares e Hipertensivas no Brasil entre 1980 e 2012. **hypertension**, v. 107, n. 1, p. 26-32, 2016.

WANDERLEY FILHO, L. E. R. *et al.* . ANEURISMA DO SEGMENTO P3 DA ARTÉRIA CEREBRAL POSTERIOR NA INFÂNCIA. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 17, n. 2, 2013.

WANG, J. *et al.* . Sex differences in trends of incidence and mortality of first-ever stroke in rural Tianjin, China, from 1992 to 2012. **Stroke**, v. 45, n. 6, p. 1626-1631, 2014.

WEIR, C. J.; BRADFORD, A. P. J.; LEES, K. R. The prognostic value of the components of the Glasgow Coma Scale following acute stroke. **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 96, n. 1, p. 67-74, 2003.

YANG, X. *et al.* . Association of IL-6 – 174G > C and – 572C > G polymorphisms with risk of young ischemic stroke patients. **Gene**, v. 539, n. 2, p. 258-262, 2014.

ZHANG, Q. *et al.* . Ideal cardiovascular health metrics and the risks of ischemic and intracerebral hemorrhagic stroke. **Stroke**, p. STROKEAHA. 113.678839, 2013.

ZIS, P. *et al.* . Ambulatory blood pressure monitoring in acute stroke: pathophysiology of the time rate of blood pressure variation and association with the 1-year outcome. **Blood pressure monitoring**, v. 18, n. 2, p. 94-100, 2013.

## ANEXOS

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



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



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/SES-DF

PARECER Nº 0095/2010

**PROCOLO 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: cepesdf@saude.df.gov.br  
SMHN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP.: 70.710-907

BRASILIA - PATRIMONIO CULTURAL DA HUMANIDADE

**ANEXO B – Ficha de identificação dos participantes da pesquisa.**

Nome do participante: \_\_\_\_\_

Nome do representante legal (se  
houver): \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

Sexo:  Masc.  Fem.

Cor: \_\_\_\_\_

Estado Civil: \_\_\_\_\_

Data do acidente vascular encefálico hemorrágico e/ou do aneurisma  
intracerebral: \_\_\_\_\_Hipertensão arterial:  Sim  Não

Pressão Arterial: \_\_\_\_\_

Diabetes:  Sim  Não

Glicemia: \_\_\_\_\_

Tabagismo:  Sim  Não Se sim, quantos maços por dia: \_\_\_\_\_Etilismo:  Sim  Não Se sim, quanto por dia: \_\_\_\_\_

Uréia: \_\_\_\_\_

Creatinina: \_\_\_\_\_

Plaquetas: \_\_\_\_\_

Escala de Glasgow: \_\_\_\_\_

Escala de Rankin: \_\_\_\_\_

Índice de Barthel: \_\_\_\_\_

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

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

Observações: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

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

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Paciente

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

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

##### Natureza e objetivos do estudo:

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

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

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

##### Procedimentos do estudo:

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

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

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

#### Riscos:

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

Poderá haver pequeno incômodo de dor no momento da introdução da agulha para a retirada do sangue e, eventualmente, a formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local.

#### Benefícios:

A sua participação neste estudo poderá proporcionar, no âmbito pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido.

Os resultados estarão sempre disponíveis a você. Caso seja de seu desejo, os resultados serão discutidos com você pela equipe deste trabalho.

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

#### Participação, recusa e direito de se retirar do estudo:

Sua participação é voluntária e não alterará o seguimento e tratamento da doença que você já está fazendo.

Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

Caso você decida não participar, isto não afetará o seguimento e tratamento normal nem o seu relacionamento com seu médico.

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

#### Confidencialidade:

Os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

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

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

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

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

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

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

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

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

Participante

## Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Representante Legal

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

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

#### Natureza e objetivos do estudo:

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

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

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

#### Procedimentos do estudo:

A participação do paciente sob sua responsabilidade consiste em autorizar que seu os pesquisadores possam ver o prontuário do paciente, para

que tenham maior conhecimento dos exames, tratamento e da história da sua doença do paciente que está sob sua responsabilidade.

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

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

#### Riscos:

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

Poderá haver pequeno incômodo de dor no momento da introdução da agulha para a retirada do sangue e, eventualmente, a formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local.

#### Benefícios:

A participação do paciente sob sua responsabilidade poderá proporcionar, no âmbito pessoal, a identificação de algum problema não antes conhecido.

Os resultados estarão sempre disponíveis a você. Caso seja de seu desejo, os resultados serão discutidos com você pela equipe deste trabalho.

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

#### Participação, recusa e direito de se retirar do estudo:

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

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

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

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

Confidencialidade:

Os registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

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

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

O sangue do paciente sob sua responsabilidade, coletado no presente estudo, ficará guardado no Centro de Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras "Aneurisma-AVE", sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

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

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

Eu, \_\_\_\_\_ RG  
\_\_\_\_\_, após receber uma explicação completa dos objetivos do  
estudo e dos procedimentos envolvidos concordo voluntariamente em permitir  
a participação do paciente sob minha responsabilidade, o  
Sr(a) \_\_\_\_\_ Brasília,  
\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

Responsável pelo Participante da pesquisa

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

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

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

O seu sangue, coletado no presente estudo, ficará guardado no Centro de Bioprospecção e Neurociências, no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, no banco de amostras “Aneurisma-AVE”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Renata Mortari e será utilizado somente para verificar os polimorfismos genéticos do presente estudo.

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

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

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

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

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

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

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

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

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## Termo de Guarda de Material Biológico – Paciente

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

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

As amostras de sangue serão identificadas com um número e não com seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número. Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca seu nome ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade.

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

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

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

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

---

Assinatura do participante

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## Termo de Guarda de Material Biológico – Representante Legal

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

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

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

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

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

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

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

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

Eu, \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_, após receber uma explicação completa dos procedimentos envolvidos na guarda de material biológico, venho através deste

termo consentir a guarda do material biológico (sangue) do paciente sob minha responsabilidade.

Paciente sob minha responsabilidade:

---

---

Assinatura do participante

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## ANEXO E – Anais de Congressos

Anais do Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular  
– HEMO 2016



### 276. IL6 -174 G/C POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH PREDISPOSITION AND POOR PROGNOSIS OF HEMORRHAGIC STROKE AND INTRACEREBRAL ANEURYSM

Borges FSA<sup>a</sup>, Campos DHM<sup>a</sup>, Cardoso LCA<sup>a</sup>, Nóbrega OT<sup>a</sup>, Kogawa EM<sup>b</sup>, Ferreira LB<sup>c</sup>, Freire DO<sup>d</sup>, Silva ICR<sup>a</sup>

*a Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil*

*b Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF, Brazil*

*c Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), Brasília, DF, Brazil*

*d Faculdade LS, Brasília, DF, Brazil*

**Objectives:** The interleukin 6 (IL6) is a pro-inflammatory cytokine that plays an important role in inflammatory processes and the immune system, among others. Evidence has shown that processes may influence the development of cerebrovascular disease. Polymorphisms in the promoter region of the coding gene IL6 may modify the structure and influence the circulating levels of the cytokine. Therefore, a case-control study was performed to assess whether there is an association between the il6 -174 g/c (rs1800795) polymorphic variants and aneurysm and hemorrhagic stroke (HS) in a Brazilian population. **Materials and methods:** Peripheral venous blood samples were collected from 92 patients with aneurysm/HS (aneurysm, n = 39; HS, n = 53) and 92 healthy individuals as control, as well as clinical characteristics. The gene amplification technique through the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and cleavage with the restriction enzyme NlaIII was used to identify the IL6 genotypes. In order to describe the categorical variables according to the presence of GG genotype, the chi-squared and Fisher exact tests were used. The significance level adopted was 5% ( $p < 0.05$ ). All data analysis were performed in SPSS 22.0. **Results:** It was observed that individuals with IL6 -174G/C (rs1800795) GG genotype present a higher risk of HS or aneurysm when compared with those carrying the wild-type genotype, CC, and GC+CC ( $p = 0.024$ ; odds ratio = 1.99; 95% CI: 1.09 to 3.63), 70/92 cases (47.8%) and 29/63 controls (31.5%) with GG genotype. There were more GG genotype patients with systemic arterial hypertension than patients with GC+CC genotype ( $p = 0.005$ ; OR = 4.15; 95% CI: 1.47 to 11.71) was observed. Furthermore, an association was observed between the presence of GG genotype in case group and poor prognosis based on the Rankin Scale ( $p = 0.002$ ). **Discussion:** The G allele is associated with an increase of IL-6 production, contributing to an

excessive inflammatory process. Some studies have evaluated the association between IL6 -174G/C (rs1800795) polymorphic variants and cardiovascular diseases in several populations. Some of these studies did not demonstrate an association; nonetheless, most of them found an increased risk of stroke and cardiovascular events, mostly with the GG genotype. **Conclusion:** The results indicate that the polymorphism IL6 -174G/C (rs1800795) might be a risk factor for predisposition of aneurysm and HS in Brazilian population; it is associated with poor prognosis in these pathologies.

**ANEXO F – Comprovante de submissão do artigo 1**

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of  
Stroke and Cerebrovascular Diseases  
Manuscript Draft

Manuscript Number: JSCVD-D-17-00543

Title: Association of the interleukin-6 -174 GC polymorphism with the risk and the prognosis of Hemorrhagic Stroke and Aneurysm.

Article Type: Original Article

Section/Category:

Keywords: IL6; Polymorphism; Stroke; Aneurysm.

Corresponding Author: Mr. Felipe Silva Alves Borges,

Corresponding Author's Institution:

First Author: Felipe Silva Alves Borges

Order of Authors: Felipe Silva Alves Borges; Felipe S Borges; Otávio T Nóbrega; Douglas H Campos; Vivian T Cipriano; Daniel O Freire; Luzitano B Ferreira; Hélia C Souza; Izabel C Silva

Abstract: We conducted a case-control study to investigate the influence of IL6 -174G/C (rs1800795) polymorphism on the development of Hemorrhagic stroke and Aneurysm in a Brazilian population. Methods: This study included 126 patients diagnosed with aneurysm/hemorrhagic stroke and 39 control individuals. The genotyping of IL6 -174G/C (rs1800795) polymorphism was performed using polymerase chain reaction combined with restriction fragment length polymorphism analysis. Results: By using logistic regression, we found that when compared with CC and GC+CC genotypes, the GG genotype was associated with an increased risk of aneurysm/hemorrhagic stroke. Odds ratios (and 95% confidence intervals) were calculated to be 2.5 (1.17-5.30). Conclusion: our study suggests that the GG genotype of the IL6 -174G/C (rs1800795) polymorphism are associated with an increased risk of aneurysm/hemorrhagic stroke.