



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

THAYS MARIA COSTA DE LUCENA

**Avaliação dos níveis de mRNA da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e
Biomarcadores Inflamatórios na Síndrome Metabólica**

Recife
2022

THAYS MARIA COSTA DE LUCENA

**Avaliação dos níveis de mRNA da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e
Biomarcadores Inflamatórios na Síndrome Metabólica**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Genética da
Universidade Federal de Pernambuco
como parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Jaqueline de Azevedo Silva

Recife
2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Lucena, Thays Maria Costa de

Avaliação dos níveis de mRNA da enzima conversora de Angiotensina (ECA) e biomarcadores inflamatórios na síndrome metabólica / Thays Maria Costa de Lucena. – 2022.

82 f. : il.

Orientadora: Jaqueline de Azevedo Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, Recife, 2022.

Inclui referências e anexos.

1. Distúrbios do metabolismo. 2. Expressão gênica. 3. Inflamação. I. Silva, Jaqueline de Azevedo (orientadora). II. Título.

616.33

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-194

THAYS MARIA COSTA DE LUCENA

**Avaliação dos níveis de mRNA da Enzima Conversora de Angiotensina
(ECA) e Biomarcadores Inflamatórios na Síndrome Metabólica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Genética. Área de concentração: Genética Humana

Aprovado em: 08/07/2022

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Jaqueline de Azevêdo Silva (Orientadora)
Programa de Pós-Graduação em Genética – PPGG/UFPE

Dra. Paula Sandrin Garcia
Programa de Pós-Graduação em Genética – PPGG/UFPE

Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical – UFPE

Dr. Bruno de Melo Carvalho
Instituto de Ciências Biológicas – Universidade de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus pais, por além de toda a confiança, reconhecerem que o estudo é a maior riqueza na vida do ser humano.

AGRADECIMENTOS

Às vezes desistir de um sonho é muito fácil quando os 'nãos' batem na porta. Muito obrigada, meu Pai Celestial, pelo discernimento, amparo e guia.

Agradeço também aos meus pais, Alcilene e José, por acreditarem em todo o meu potencial, e por muitas vezes acreditarem mais do que a mim mesma. Muito obrigada pelo amor e por sempre estarem segurando as minhas mãos em qualquer decisão. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Thiago e Tarciso, por sempre torcerem pelas minhas conquistas e principalmente por terem me dado os melhores presentes da minha vida durante essa jornada, Sofia e Helena, que tornaram a caminhada mais doce e alegre.

Ao meu amado Tiago, por sempre estar ao meu lado e me apoiar, literalmente, em tudo! Obrigada por também sempre acreditar no meu potencial, pela força, carinho e amor de sempre.

À minha amiga Taliny, pela torcida e por, mesmo distante, tornar meus dias mais leves. Obrigada por ser minha pessoa!

À minha querida orientadora Prof^a Jaqueline, muito obrigada por confiar no meu trabalho e por todos os ensinamentos dessa jornada acadêmica. Tenho muito orgulho em ser tua aluna!

À minha amiga do lab e parceira de experimentos Duda, muito obrigada por compartilhar tuas experiências, por toda ajuda e ensinamentos!

Aos meus colegas do Mestrado, Aldi e Guilherme, que compartilharam comigo, mesmo que on-line, os melhores e piores momentos da pós-graduação.

E por fim, ao órgão de fomento CNPq pelo financiamento deste trabalho.

RESUMO

A Síndrome Metabólica (SM) é um conjunto de manifestações clínicas que contribuem diretamente para o risco de doenças cardiovasculares (DCVs). O sistema renina-angiotensina (RAS) é o principal mecanismo de regulação da pressão arterial, mas a atividade excessiva do seu componente, a enzima conversora de angiotensina (ECA), pode ocasionar inflamação crônica e ativar citocinas inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e IL-10. O objetivo desse estudo é avaliar a expressão gênica da *ACE* e biomarcadores inflamatórios (*IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10*) obtidos através do sangue total de indivíduos com SM. Quanto à metodologia foi realizada a expressão relativa dos genes *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10* em 133 indivíduos, divididos em 4 grupos: indivíduos com SM (n= 56), indivíduos com 1 Característica Clínica (n= 31), indivíduos com 2 Características Clínicas (n= 22) e controles saudáveis (n= 24), por meio da equação $2^{-\Delta\Delta Cq}$. Para a análise estatística foram realizados os testes de Shapiro-Wilk, Teste T Student e Mann-Whitney. Observamos expressão dos genes *ACE* (FC: +2,226; p=9,4x10⁻⁵), *IL-1 β* (FC: +1,445; p=0,005129), *IL-6* (FC: +1,526; p=0,001483) e *IL-10* (FC: +1,304; p=1,202x10⁻⁶) no grupo de SM em relação aos controles. O grupo de SM também foi analisado em relação ao grau de lesão aterosclerótica. Indivíduos com lesão aterosclerótica severa e primárias obtiveram níveis de mRNA aumentados dos genes em estudo. Este trabalho indica que a expressão dos genes *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10* está associada a condições clínicas da SM e lesões ateroscleróticas, o que contribui para auxiliar no prognóstico da SM.

Palavras-chave: doenças metabólicas; sistema renina-angiotensina; inflamação; expressão gênica.

ABSTRACT

Metabolic Syndrome (MS) is a set of clinical manifestations that directly contribute to the risk of cardiovascular diseases (CVDs). The renin-angiotensin system (RAS) is a main blood pressure regulation mechanism, but excessive activity of its component, the angiotensin-converting enzyme (ACE), can cause chronic inflammation and activate inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6 and IL-10. The objective of this study is to evaluate gene expression of *ACE* and inflammatory biomarkers (*IL-1 β* , *IL-6* and *IL-10*) obtained from the whole blood of individuals with MS. Regarding the methodology, relative expression of the *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* and *IL-10* genes was performed in 133 individuals, divided into 4 groups: individuals with MS (n= 56), individuals with 1 Clinical Characteristic (n= 31), individuals with 2 Clinical Characteristics (n= 22) and healthy controls (n= 24), using the $2^{-\Delta\Delta Cq}$ equation. For statistical analysis, Shapiro-Wilk, T Student and Mann-Whitney tests were performed. We observed expression of *ACE* genes (FC: +2.226; $p=9.4\times 10^{-5}$), *IL-1 β* (FC: +1.445; $p=0.005129$), *IL-6* (FC: +1.526; $p=0.001483$) and *IL-10* (FC: +1.304; $p=1.202\times 10^{-6}$) in the MS group compared to controls. The MS group was also analyzed in relation to the degree of atherosclerotic lesion. Subjects with severe and primary atherosclerotic lesions had increased mRNA levels of the genes under study. This work indicates that the expression of *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* and *IL-10* genes is associated with MS clinical conditions and atherosclerotic lesions, which contributes to the prognosis of MS.

Key words: metabolic diseases; renin-angiotensin system; inflammation; gene expression.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Características Clínicas relacionadas à Síndrome Metabólica.....	18
Figura 2 – Critérios Clínicos da Síndrome Metabólica.....	19
Figura 3 – Localização do tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom	22
Figura 4 – Adipocinas presentes no tecido adiposo	24
Figura 5 – Mecanismo da insulina em indivíduos saudáveis vs hiperglicêmicos.....	27
Figura 6 – Composição do vaso com dislipidemia.....	29
Figura 7 – Doenças Metabólicas contribuintes para a HAS	31
Figura 8 – Processo de formação da placa aterosclerótica.....	34
Figura 9 – Mecanismo Clássico e Alternativo do RAS	37
Gráfico 1 – Análise de Expressão Gênica entre indivíduos com SM vs controles.....	54
Gráfico 2 – Análise de Expressão do gene <i>ACE</i> entre indivíduos com DM2 vs sem DM2.....	55
Gráfico 3 – Análise da Expressão do gene <i>ACE</i> entre indivíduos com dislipidemia vs sem dislipidemia.....	55
Gráfico 4 – Análise da Expressão do gene <i>IL-1β</i> entre indivíduos sem DM2 vs com DM2 (A) e indivíduos com sobrepeso vs obesidade (B).....	56
Gráfico 5 – Análise de Expressão Gênica de acordo com o grau de lesão aterosclerótica	57
Gráfico 6 – Análise da Expressão Gênica entre indivíduos com 2CC vs controles ...	58
Gráfico 7 – Análise da Expressão Gênica entre indivíduos com 1CC vs controles ...	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios de Inclusão e Exclusão dos Indivíduos do Estudo	49
Tabela 2 – Características Clínicas e Demográficas dos Indivíduos com SM e Controles Saudáveis	53

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1CC	1 Característica Clínica
2CC	2 Características Clínicas
ADAM17	Enzima pleiotrópica desintegrina e metaloprotease 17
Alu	Alumínio
AMPK	Proteína quinase monofosfato de adenosina
Ang-I	Angiotensina I
Ang-II	Angiotensina II
AP-1	Proteína adaptadora 1
apoB	Apolipoproteína B
AT ₁ R	Receptores de angiotensina II tipo 1
AT ₂ R	Receptores de angiotensina II tipo 2
AT ₄ R	Receptores de angiotensina II tipo 4
AVE	Acidente vascular encefálico
B2M	<i>β-2 microglobulin</i>
BAT	<i>Brown adipose tissue</i>
CAMs	<i>Cells adhesion molecules</i>
cAMP	Monofosfato de adenosina cíclico
CARD	Domínio de recrutamento de caspases
cDNA	DNA complementar
CEA	Endarterectomia carotídea
D	Deleção
DAMPs	Padrões moleculares associados à danos
DCVs	Doenças Cardiovasculares
dL	decilitro
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
ECA-I	Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético

EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EUA	Estados Unidos da América
GLUT-4	Translocação do transportador de glicose 4
GSDMD	Gasdermina D
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
I	Inserção
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular 1
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IFN- γ	Interferon γ
IGF	Fatores de crescimento semelhantes à insulina
IKK	I κ B Quinase
IL-1	Interleucina 1
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-6R	Receptor da Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IMC	Índice de Massa Corporal
iNOS	Óxido nítrico sintase indutível
JNK	Quinase junção N-terminal
K	Potássio
kg	Quilograma
LAG	Lesões Ateroscleróticas Graves
LAI	Lesões Ateroscleróticas Iniciais
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-ox	LDL oxidado
LGBMH	Laboratório de Genética e Biologia Molecular Humana
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami

LPL	Lipase lipoproteica
LRRs	Repetições ricas em leucinas
m ²	metro quadrado
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MASR	Receptor MAS
MCP-1	Monócito quimioatraente proteína 1
mg	miligrama
mmHg	milímetros de mercúrio
mRNA	RNA mensageiro
mTOR	Rapamacina em mamíferos
NA	Sódio
NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NCEP-ATP III	<i>National Cholesterol Education Program's Adult</i>

Treatment Painei III

NF-κB	Fator nuclear de transcrição <i>kappa-B</i>
NK	<i>natural killer</i>
NLRP3	<i>NOD like receptors protein 3</i>
NLRs	<i>NOD like receptors</i>
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados à patógenos
PKC	Proteína quinase C
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões
PYD	Domínio pirina
RAS	Sistema Renina-Angiotensina
RI	Resistência à Insulina
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SCAT	<i>Subcutaneous adipose tissue</i>
sdLDL	Pequena e densa partícula de lipoproteína de baixa densidade
SM	Síndrome Metabólica

SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
SNS	Sistema Nervoso Simpático
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TLRs	Receptor <i>Toll-Like</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
VAT	<i>Visceral adipose tissue</i>
VCAM-1	Proteína 1 de Adesão Vascular
VSMC	<i>Vascular smooth muscle cell</i>
WAT	<i>White adipose tissue</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	OBJETIVOS.....	17
1.1.1	Objetivo Geral	17
1.1.2	Objetivos Específicos.....	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	SÍNDROME METABÓLICA.....	18
2.1.1	Obesidade.....	20
2.1.2	Resistência à Insulina e Hiperglicemia	26
2.1.3	Dislipidemia.....	28
2.1.4	Hipertensão Arterial Sistêmica	30
2.2	ATEROSCLEROSE	31
2.3	SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.....	37
2.3.1	Gene <i>ACE</i>	39
2.4	MARCADORES INFLAMATÓRIOS DA SÍNDROME METABÓLICA	40
2.4.1	IL-6.....	41
2.4.2	IL-1 β	43
2.4.3	IL-10.....	45
3	MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1	CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO, EXAMES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS 47	
3.2	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	47
3.3	ISOLAMENTO DE RNA.....	50
3.4	SÍNTESE DE DNA COMPLEMENTAR (CDNA).....	50
3.5	ENSAIOS DE EXPRESSÃO GÊNICA	51
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
4	RESULTADOS	52
4.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS DOS INDIVÍDUOS EM ESTUDO 52	
4.2	PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA NA SÍNDROME METABÓLICA.....	54

4.3 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA E OS GRAUS DE LESÃO ATEROSCLERÓTICA NA SM	56
4.4 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM INDIVÍDUOS COM 2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	58
4.5 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM INDIVÍDUOS COM 1 CARACTERÍSTICA CLÍNICA.....	59
5 DISCUSSÃO.....	61
6 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	80
ANEXO B - CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO(A).....	82

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome Metabólica (SM) é um conjunto de sinais e sintomas decorrentes de condições patológicas associadas a um estado metabólico, pró-inflamatório e pró-trombótico. Essa patologia acomete cerca de 25% da população mundial, e está presente tanto em países desenvolvidos, como os Estados Unidos da América (EUA), quanto países em desenvolvimento, como o Brasil, estimando-se uma prevalência de 30% e 22%, respectivamente.

Para o diagnóstico da SM, o indivíduo deve apresentar pelo menos três ou mais condições associadas, que são: hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, hiperglicemia, resistência à insulina (RI) e dislipidemia. Essas condições clínicas são consideradas fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs).

DCVs compreendem todas as alterações fisiopatológicas que acometem o coração e/ou vasos sanguíneos. Trata-se de um crescente problema mundial de saúde pública, em que as principais etiologias associadas, como Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) ou Acidentes Vasculares Encefálicos (AVE), são provenientes da aterosclerose. Considerado um processo multifatorial, crônico e inflamatório, a aterosclerose é caracterizada pela formação de placas na parede dos vasos sanguíneos, causando estreitamento das artérias, comprometimento do fluxo sanguíneo e bloqueio redução da oxigenação dos órgãos e tecidos.

Embora a patogênese da SM seja complexa e ainda não muito compreendida, estudos indicam que se trata de uma doença multifatorial crônica, estabelecida pela influência genética, em que o processo inflamatório sistêmico são características evidentes na progressão da fisiopatologia. Esta última é oriunda da interação do sistema imune com produtos derivados das alterações do metabolismo de glicídios e lipídios, o que provoca um dano celular. Devido a isso, diante da apresentação das moléculas oriundas dos glicídios e lipídios, uma cascata de expressão de genes é ativada, entre eles o fator nuclear de transcrição kappa-B (NF-kB), que modula a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 1-beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), e citocina imunorreguladora anti-inflamatória, como a interleucina 10 (IL-10), no qual podem desempenhar papéis fundamentais na resposta imune dos indivíduos acometidos com a SM.

A alteração do sistema renina-angiotensina (RAS) também é um mecanismo presente na SM. A expressão gênica do *ACE*, principal componente do sistema, pode ocasionar vasoconstrição, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e diminuição da produção do óxido nítrico (NO), em consequência ocasionando a disfunção endotelial. Esses aspectos apresentam influência nos fatores de risco cardio-metabólicos.

A desregulação do RAS, através do mecanismo excessivo da ECA e a modulação dos níveis de citocinas, evidenciando a inflamação crônica, estabelece uma ligação entre componentes da SM e aterogênese. Desse modo, o entendimento desses aspectos pode auxiliar na elucidação das vias comuns à síndrome, e contribuir para o prognóstico da fisiopatologia, minimizando o risco ao desenvolvimento de complicações associadas.

Diante disso, esse trabalho trata-se de estudo realizado em humanos através de amostras de sangue total relacionando os níveis de RNA mensageiro (mRNA) dos genes *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10* em indivíduos com SM e a associação dos graus de lesão aterosclerótica nestes.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar e comparar a expressão gênica do *ACE* e biomarcadores inflamatórios obtidos através do sangue periférico de indivíduos com Síndrome Metabólica.

1.1.2 Objetivos Específicos

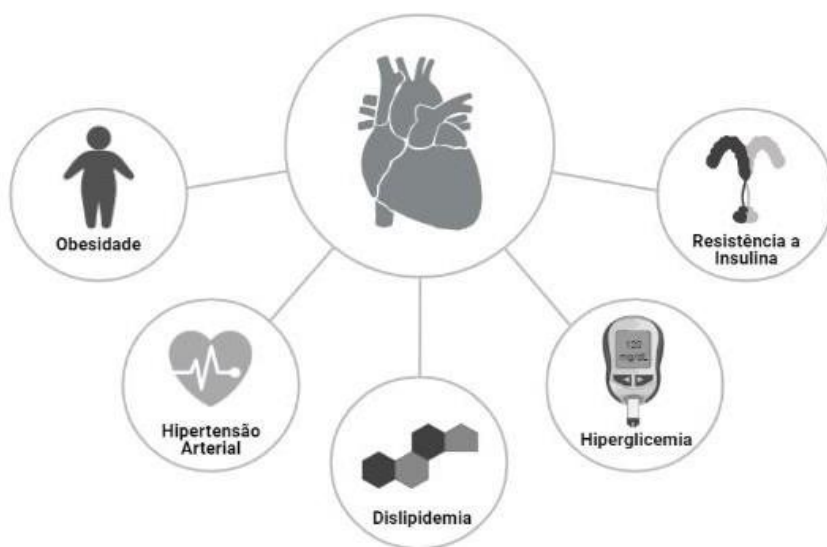
- Comparar a expressão gênica relativa do *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* entre o grupo de indivíduos com SM e indivíduos saudáveis;
- Avaliar a expressão gênica do *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* entre as características clínicas estratificadas dos indivíduos com SM;
- Avaliar a expressão gênica do *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* em diferentes graus de estenose das artérias coronárias de acordo com a angiografia de indivíduos com SM;
- Comparar a expressão gênica do *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* entre os grupos de indivíduos com uma característica clínica, duas características clínicas e indivíduos saudáveis.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SÍNDROME METABÓLICA

A Síndrome Metabólica (SM) é uma doença crônica, estabelecida por meio de características genéticas e ambientais, de caráter plurimetabólico, representada por um agrupamento de características clínicas (Figura 1) que estão associadas ao maior risco de desenvolvimento das complicações do DM2, e pelo aumento precoce do risco da aterosclerose (BOVOLINI et al., 2021; GURKA et al., 2018; PALOMO, 2012).

Figura 1 – Características Clínicas relacionadas à Síndrome Metabólica



Fonte: A Autora (2022)

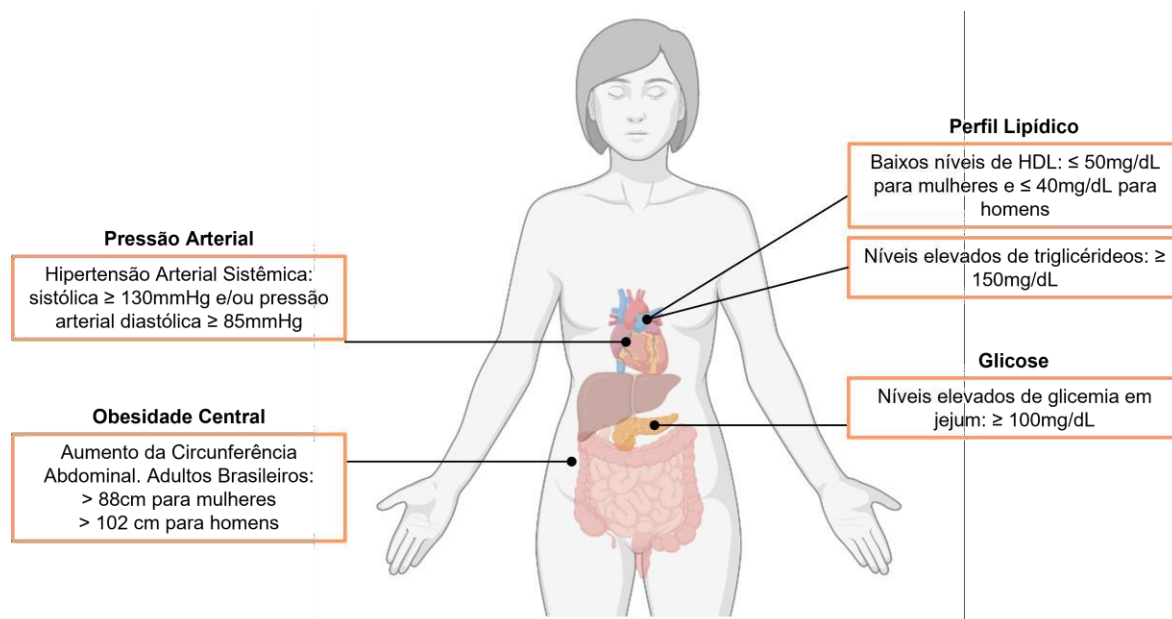
A SM também é conhecida como síndrome X, síndrome de resistência à insulina, síndrome plurimetabólica e quarteto mortal (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005; GUPTA; GUPTA, 2010), sendo suas primeiras definições surgindo desde a década de 20, todas associadas aos riscos cardiovasculares (KATSIMARDOU et al., 2020).

Em 1923, Kylin foi o primeiro a descrever a SM, quando relacionou a hipertensão e hiperglicemia. Em 1947, o médico Jean Vague fez a observação de que o aumento da cintura caracterizava um terceiro distúrbio, a obesidade, tratando-se de um acúmulo de tecido adiposo parecendo predispor a DM2 e DCVs. Já em 1977, Gerald Phillips relatou que os fatores de riscos para infarto do miocárdio coincidem para formar uma “constelação de anormalidades”, sugerindo haver uma

ligação que contribuísse para as DCVs (GUPTA; GUPTA, 2010). Somente apenas em 1988, Gerald Reaven descreveu a presença simultânea dos quatro fatores de risco cardiovasculares: HAS, intolerância à glicose, dislipidemia e obesidade (REAVEN, 1988).

Ao longo dos últimos 30 anos, vários critérios para definição do diagnóstico da SM foram discutidos. Os critérios propostos pela *World Health Organization* (WHO), *International Diabetes Federation* (IDF) e *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) (ALBERTI et al., 2006; SAKLAYEN, 2018; SUMMARY OF THE NCEP ADULT TREATMENT PANEL III REPORT, 2001) são os mais utilizados. Este último é utilizado no Brasil, onde os critérios foram propostos pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (LIBERMAN; MANSUR, 2005). A caracterização da fisiopatologia é feita quando o indivíduo apresenta uma combinação de pelo menos três das seguintes cinco condições clínicas (BOVOLINI et al., 2021), conforme figura 2 abaixo:

Figura 2 – Critérios Clínicos da Síndrome Metabólica



Fonte: A Autora (2022)

De forma geral observa-se que a SM está aumentando na população. As taxas globais evidenciam que aproximadamente 50% do público adulto na faixa etária de 40-49 anos apresenta essa condição. Com relação à população idosa, é observado aumento significativo com o avanço da idade, chegando a acometer mais de 30% da população com idade acima de 60 anos (CAMERON; SHAW; ZIMMET, 2004; MANAF et al., 2021; SAKLAYEN, 2018).

Além da idade, como fator demográfico para incidência da SM, e anormalidades genéticas, estudos apontam que fatores sociodemográficos controláveis ou modificáveis, como baixa escolaridade, desigualdade e isolamento social, tensão psicossocial e estilo de vida com padrões dietéticos não saudáveis, sedentarismo, alcoolismo e tabagismo estão associados à maior predisposição a SM (RASK-MADSEN et al., 2010; VIEIRA; PEIXOTO; SILVEIRA, 2014).

A SM é cerca de três vezes mais comum do que a diabetes, a prevalência global pode ser estimada em cerca de um quarto da população mundial, ou seja, mais de um bilhão de pessoas no mundo são afetadas pela SM (SAKLAYEN, 2018).

Por ser um processo multifatorial e complexo (KRAMER; ZINMAN; RETNAKARAN, 2013), para um melhor entendimento dos processos que desencadeiam a SM, é necessário o esclarecimento da fisiopatologia de todas as características clínicas envolvidas na síndrome e como elas influenciam umas às outras.

2.1.1 Obesidade

Obesidade é tradicionalmente definida como uma doença multifatorial crônica caracterizada pelo acúmulo visceral e subcutâneo de gordura que leva à maior predisposição ao desenvolvimento de doenças cardio-metabólicas (BARAKAT; ALMEIDA, 2021).

Entre os anos de 1975 e 2016, a prevalência mundial de indivíduos obesos quase triplicou, evidenciando um problema significativo e em constante crescimento, atingindo níveis pandêmicos. Em 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos, aproximadamente 39% da população mundial foi considerada obesa ou apresentava sobrepeso (BLÜHER, 2019; KOJTA; CHACIŃSKA; BŁACHNIO-ZABIELSKA, 2020). No Brasil, o sobrepeso é observado em mais da metade dos brasileiros adultos, enquanto a obesidade afeta 16,8% dos homens e 24,4% das mulheres (ABESO, 2021).

De acordo com a *WHO*, o índice de massa corporal (IMC) é uma medida que serve para indicar e classificar a medida em kg/m² de sobrepeso e obesidade em adultos (WHO, 2021a). Basicamente é definido o peso em quilogramas (kg), dividido pelo quadrado de sua altura (m²) do indivíduo, de acordo com a equação descrita abaixo:

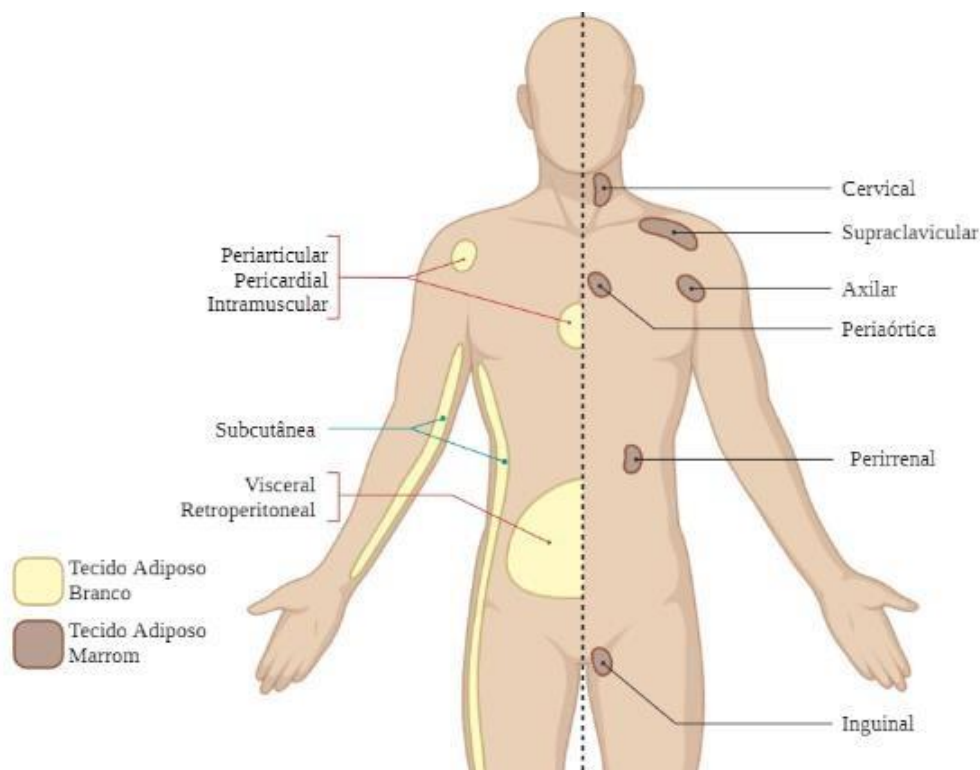
$$\text{IMC} = \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^2} \right)$$

Para adultos, é determinado que indivíduos com sobrepeso apresentam IMC $\geq 25\text{kg/m}^2$, enquanto a obesidade deve ser considerada quando apresenta o IMC $\geq 30\text{kg/m}^2$. Para idosos, a obesidade é considerada quando o IMC $\geq 27\text{kg/m}^2$. O IMC fornece a medida populacional mais útil de sobrepeso e obesidade, pois é o mesmo para ambos os sexos e para todas as idades, de acordo com a faixa etária, entre adultos e idosos (SHERLING; PERUMAREDDI; HENNEKENS, 2017).

As condições de obesidade e sobrepeso são os principais contribuintes da SM, que afeta um em cada três adultos. A característica física atribuída à essas condições e associada à SM é a medida da circunferência da cintura maior que 88cm na mulher e 102cm no homem, o que parece contribuir para a fisiopatologia da SM (ROSS, 2017).

O tecido adiposo é um órgão endócrino com alta atividade biológica, variando entre sua localização e estado metabólico (Figura 3), de acordo com sua classificação em tecido adiposo marrom (BAT, do inglês *brown adipose tissue*) e tecido adiposo branco (WAT, do inglês *white adipose tissue*) (OIKONOMOU; ANTONIADES, 2019).

Figura 3 – Localização do tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom



Fonte: A Autora (2022)

BAT está localizado em regiões profundas, como perirrenal, periaórtico, inguinal e pericárdico, e regiões superficiais, como interescapular, cervical e axilar. A localização desse tipo de tecido é responsável pelo isolamento térmico, através da energia dissipada pela termogênese, e proteção contra choque mecânico (JORGE et al., 2017).

O WAT é predominantemente encontrado no corpo humano, principalmente na região abdominal, e tem como função armazenar energia e liberar hormônios e citocinas, modulando o metabolismo e homeostase. Entretanto, apresenta diferenças quanto a fisiopatologia em relação à localização, sendo denominado de tecido adiposo subcutâneo (SCAT, do inglês *subcutaneous adipose tissue*) ou tecido adiposo visceral (VAT, do inglês *visceral adipose tissue*) (ESSER et al., 2014a).

Em condições normais, o SCAT corresponde a cerca de 80% de toda gordura corporal por estar localizado abaixo da pele, principalmente nas regiões da parede abdominal anterior e região glúteo-femoral, possuindo um efeito protetor sobre a homeostase energética (IBRAHIM, 2010). Já o VAT, localizado na região intra-abdominal central, especificamente no epicárdio, pericárdio, mesentério e omental,

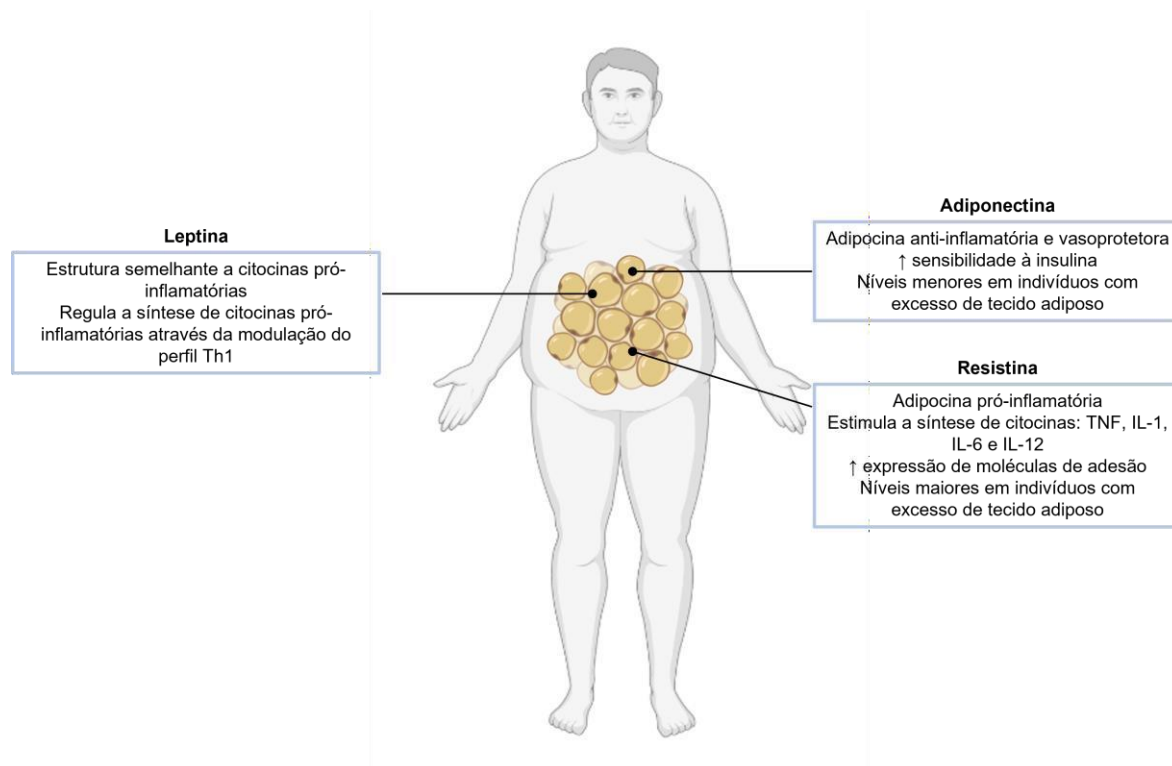
apresenta um percentual menor da gordura total, em cerca de 10% para homens e 5% para mulheres (IBRAHIM, 2010; OIKONOMOU; ANTONIADES, 2019).

Além da localização e quantidade, diferenças fisiológicas entre SCAT e VAT são observadas. VAT apresenta uma menor capacidade de diferenciação de pré-adipócitos e maior porcentagem de adipócitos, quando comparado ao SCAT. Os adipócitos do VAT são metabolicamente mais ativos, mais susceptível a lipólise e está associado a uma maior produção de citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, de TNF- α e IL-6, e maior ativação de macrófagos, sendo então essa adiposidade mais inflamatória quando comparada à gordura subcutânea (IBRAHIM, 2010; MONTEIRO; AZEVEDO, 2010; UNAMUNO et al., 2018). Estudos demonstram uma menor contagem de linfócitos T reguladores anti-inflamatórios no tecido adiposo visceral de indivíduos obesos com SM (ESSER et al., 2013).

A obesidade com o acúmulo de VAT é um fator contribuinte à resistência insulínica, pois este tecido tem a capacidade de liberar grandes porções de ácidos graxos não-esterificados na corrente sanguínea, o que leva a um acúmulo de lipídios em outros órgãos e tecidos como fígado e músculos, além da maior predisposição à dislipidemia. Essas características em conjunto com elevada pressão arterial têm a tendência a manifestar um estado pró-inflamatório e pró-trombótico, resultando a um maior risco à DCVs pela aterosclerose (BARAKAT; ALMEIDA, 2021; RASK-MADSEN et al., 2010).

Como mencionado, o VAT é fonte de numerosas adipocinas, citocinas inflamatórias presentes nos adipócitos, das quais em sua maioria são consideradas pró-inflamatórias (Figura 4). Evidências sugerem que o desequilíbrio entre as adipocinas pró e anti-inflamatórias, pode ser responsável pelo desenvolvimento da resistência à insulina, assim como disfunção endotelial e aterosclerose em pacientes obesos (KESSLER, 2021; LOVREN; TEOH; VERMA, 2015).

Figura 4 – Adipocinas presentes no tecido adiposo



Fonte: A Autora (2022)

Adiponectina é a adipocina mais abundante secretada pelo tecido adiposo e está envolvida na resposta inflamatória e regulação do balanço energético, desenvolvendo um papel anti-inflamatório. Indivíduos obesos ou com sobrepeso apresentam níveis plasmáticos de adiponectina menores. A adiponectina aumenta a sensibilidade à insulina através do aumento do gasto de energia e da oxidação dos ácidos graxos pela fosforilação da proteína quinase 5-AMP-ativada (AMPK), e pela modulação da expressão de diversos genes envolvidos do metabolismo dos ácidos graxos (FRANCISCO et al., 2018; STOLARCZYK, 2017).

A adiponectina exerce ainda um papel vaso-protetor por induzir a produção de óxido nítrico (NO) nas células endoteliais da parede arterial através tanto da ativação da via AMPK, como aumentando a expressão local nessas células da enzima produtora de NO, a óxido nítrico sintase (NOS). Além disso, a adiponectina reduz a secreção de citocinas pró-inflamatórias, mais especificamente a IL-6 e TNF- α (CHEN et al., 2003; FARKHONDEH et al., 2020).

Em contrapartida, resistina é uma adipocina encontrada em grandes quantidades em indivíduos com excesso de tecido adiposo visceral. Ela possui um

caráter pró-inflamatório por estimular a síntese de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e as interleucinas IL-1, IL-6 e IL-12, através da via do NF- κ B. Além disso, a resistina aumenta a expressão de moléculas de adesão, como a proteína 1 de adesão vascular (VCAM-1) e a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) (FEIJÓO-BANDÍN et al., 2020).

Outra adipocina pró-inflamatória é a leptina, ela é estruturalmente muito semelhante a citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-12, além de modular a resposta imune pelas células T, estimulando a proliferação de células Th1 e aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias pela regulação de diferentes células do sistema imune (STOLARCZYK, 2017; WU; HUAN, 2007).

Indivíduos com sobrepeso e obesos, por apresentarem um maior percentual de gordura visceral, têm como consequência um desbalanço entre os níveis de adipocinas pró e anti-inflamatórias, levando à diminuição de adiponectina e ao aumento da liberação de resistina e leptina, gerando um efeito pró-aterosclerótico nesses indivíduos (UNAMUNO et al., 2018).

A obesidade está fortemente associada ao aumento do estresse oxidativo, isso porque a produção de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo contribui para uma alta produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), além da expressão elevada de *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oxidase, enzima que contribui para a produção de EROs (BARAZZONI et al., 2018; KARAM et al., 2017).

Sendo assim, o desbalanço da resposta imune e consequente estímulo na produção de EROs pelas adipocinas pró-inflamatórias, são exemplos de mecanismos presentes na obesidade que levam ao aumento do risco cardiovascular (ABOONABI; MEYER; SINGH, 2019). Embora seja impossível avaliar precisamente a contribuição da obesidade como único fator ao desenvolvimento da aterosclerose, é necessário correlacionar as demais características associadas à SM, e o papel da obesidade como peça-chave no entendimento do estabelecimento dessa patologia (ZORENA et al., 2020).

2.1.2 Resistência à Insulina e Hiperglicemia

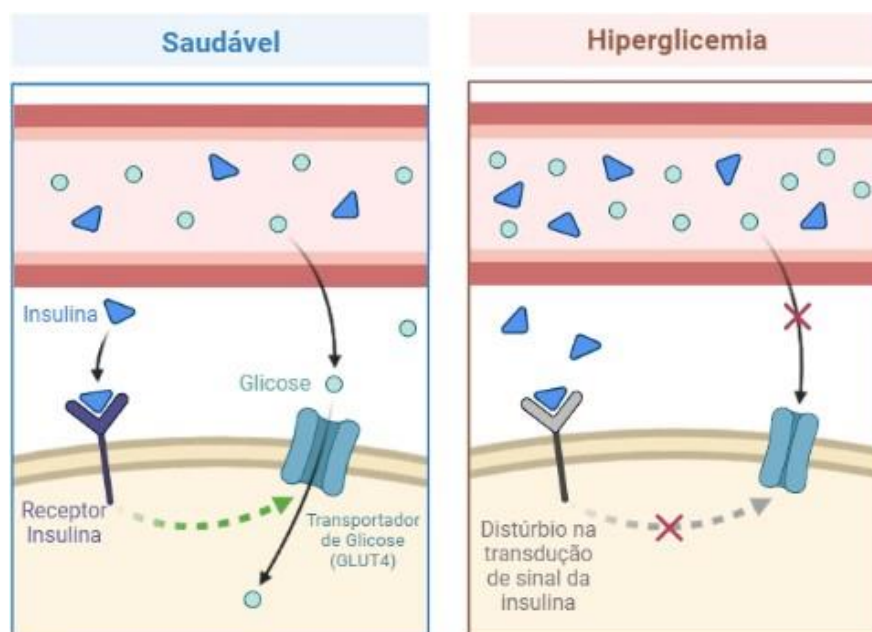
Resistência à insulina (RI) é definida como uma condição patológica em que ocorre a diminuição da capacidade de transdução do sinal e a propagação no meio intracelular das células-alvo da insulina.

A insulina é um hormônio peptídico endócrino constituído por 51 aminoácidos e composta por uma cadeia α e uma β ligadas como um dímero por duas pontes dissulfeto. A insulina pertence a uma família de peptídeos que inclui fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) I e II, e é liberada pelo pâncreas, a partir das células β -pancreáticas, em resposta ao aumento dos níveis plasmáticos de glicose e aminoácidos (BARAZZONI et al., 2018; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A resistência aos efeitos biológicos da insulina é uma condição patológica em que células dependentes de insulina, como músculo esquelético, adipócitos e hepatócitos, não apresentam uma resposta adequada aos níveis circulantes de insulina. Desse modo, RI é uma característica comum da SM e um importante fator contribuinte na patogênese da DM2 e da aterosclerose (YARIBEYGI et al., 2019).

A insulina desempenha um papel fundamental na entrada de glicose nas células (Figura 3), qualquer distúrbio na transdução de sinal desse peptídeo está associado à hiperglicemia devido à incapacidade das cavéolas, invaginações presentes em vários tipos celulares, promover a absorção de glicose. Ou seja, nos estágios iniciais da RI, o pâncreas cria um mecanismo compensatório aumentando a secreção desse hormônio na corrente sanguínea na tentativa de minimizar os defeitos na ação periférica da insulina. No entanto, este processo leva à hipertrofia das células β -pancreáticas fazendo com que estas não consigam produzir a insulina (Figura 5) (SAMUEL; SHULMAN, 2016; YARIBEYGI et al., 2019).

Figura 5 – Mecanismo da insulina em indivíduos saudáveis vs hiperglicêmicos.



Nota: O indivíduo saudável (imagem à esquerda) apresenta desempenho da insulina no reconhecimento da glicose através do seu receptor. Qualquer distúrbio na transdução da insulina (imagem à direita) provoca aumento da glicose na corrente sanguínea.

Fonte: A Autora (2022)

Além de mutações nos genes envolvidos na via de sinalização da insulina, a inflamação tecidual crônica também contribui para manifestação da RI. A obesidade e dislipidemia, relacionados ao acúmulo de adipócitos e lipoproteínas em tecido, respectivamente, desencadeiam uma resposta pró-inflamatória que prejudica a atuação da insulina por alterar processos de transdução de sinal, eventos de fosforilação e interações proteína-proteína na via de sinalização da insulina dessas células (TURBAN; HAJDUCH, 2011).

O acúmulo de adipócitos e lipídios gera um estresse nas quinases JNK (quinase junção N-terminal) e IKK (Ik quinase) o que impede a fosforilação dos receptores de insulina. Além disso, esse estresse desencadeia a expressão de citocinas e quimiocinas inflamatórias como o TNF- α , IL-6 e IL-1, pela ativação do fator de transcrição nuclear NF- κ B, uma molécula central na ativação da inflamação nas células na DM2 (YARIBEYGI et al., 2019).

A RI é um fator de risco para DCVs, mesmo quando não está associada à hiperglicemia, o que acontece é que a insulina pode ter efeito protetor ou deletério em relação à vasculatura. Os efeitos protetores estão relacionados à ativação do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) por meio da via PI3K/Akt, provocando

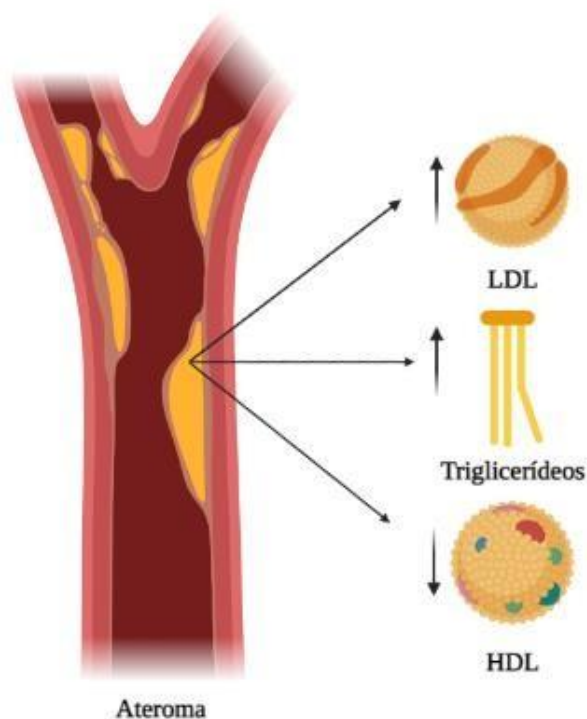
vasodilatação. Quanto aos efeitos deletérios ocorre a aterogênese e a progressão da placa. Macrófagos, células endoteliais e as células vasculares do músculo liso (VSMC – vascular smooth muscle cell), expressam o receptor da insulina e possuem vias de sinalização que atuam na vasoconstrição e atividade pró-inflamatória. Esses efeitos vasculares são mediados pela via da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), que está envolvida nos efeitos da insulina (ORMAZABAL et al., 2018).

Entretanto, a hiperglicemia associada pode aumentar o nível de fatores pró-trombóticos e marcadores pró-inflamatórios. O excesso de glicose na corrente sanguínea também induz a apoptose e prejudica a liberação de NO, assim como aumenta a expressão de moléculas de adesão como P-selectina, VCAM-1 e ICAM-1. Além disso, relaciona-se com o aumento do estresse oxidativo e ativação da via de inflamação do NF- κ B. A hiperglicemia induz alterações epigenéticas em regiões promotoras de genes alvo deste fator de transcrição, como IL-1, IL-6, IL-8, entre outros, o que leva a um aumento do estresse oxidativo e da inflamação (BORNFELDT; TABAS, 2011; JANUS et al., 2016).

2.1.3 Dislipidemia

Alterações nos níveis séricos e composição dos lipídios plasmáticos caracterizam a dislipidemia. Indivíduos com SM podem apresentar qualquer anormalidade do perfil lipídico (Figura 6), caracterizadas como: altos níveis de colesterol total e triglicerídeos plasmáticos, altos níveis de apolipoproteína B (apoB), baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) e aumento das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (ORMAZABAL et al., 2018).

Figura 6 – Composição do vaso com dislipidemia



Fonte: A Autora (2022)

O LDL rico em triglicerídeos pode sofrer hidrólise por lipase hepática ou lipase lipoproteica, o que leva a uma pequena e densa partícula de LDL (sdLDL), em que podem ser mais aterogênicas que as partículas de LDL, por serem mais susceptíveis à oxidação antes mesmo da captação pelos macrófagos e por possuírem uma maior afinidade aos proteoglicanos da parede arterial (KUMARI; KUMAR; KANT, 2019; SACKS; CAMPOS, 2003).

Essas alterações nos níveis do perfil lipídico, também denominada de dislipidemia aterogênica está intimamente relacionada com a RI e é muitas vezes visto como uma alteração precoce antes que a DM2 se desenvolva. Devido à essa complexidade, trata-se então de fatores de risco que favorece o desenvolvimento de risco cardiovascular nos portadores desta síndrome (BAHIRU et al., 2021).

A obesidade que também está intimamente associada ao desenvolvimento de DM2 e DCVs, apresentando também um efeito importante na modificação do perfil de lipoproteínas e fatores associados à inflamação sistêmica e vascular. Concentrações exacerbadas de lipídios e apolipoproteínas podem produzir mudanças conformacionais ou catabólicas das partículas de lipoproteínas,

contribuindo para o aumento da lipólise e liberação de ácidos graxos na circulação, resultando em um estado pró-aterogênico e pró-inflamatório (ORMAZABAL et al., 2018).

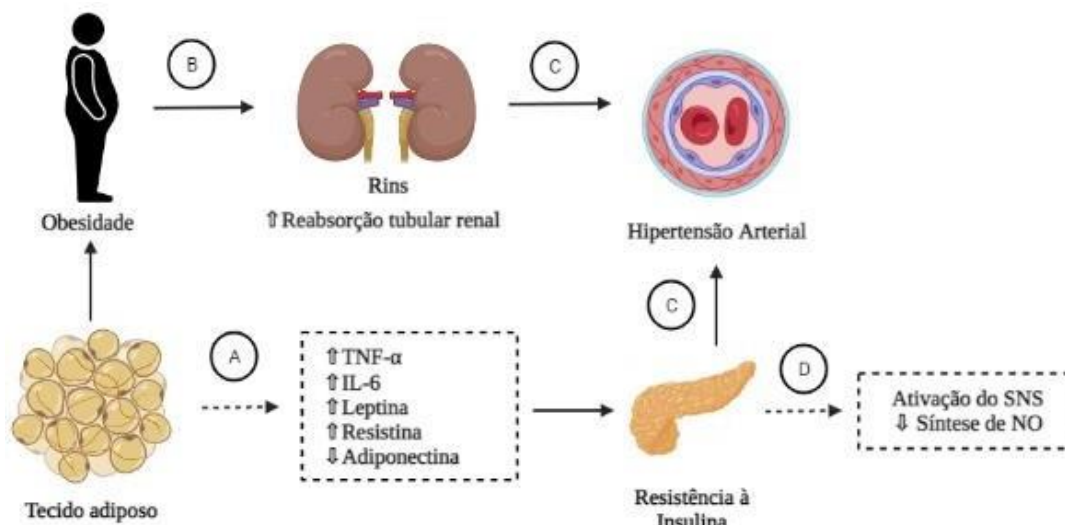
2.1.4 Hipertensão Arterial Sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) aumenta significativamente o risco de doenças cardíacas, cerebrais e renais e é uma das principais causas de morte e doenças em todo o mundo. Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), a HAS afeta mais de 30% da população adulta entre 30 e 79 anos em todo o mundo. Esse número aumentou significativamente de 650 milhões para 1,28 bilhões nos últimos 30 anos, e atualmente, cerca de 700 milhões de pessoas possuem hipertensão não tratada (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2021).

A pressão arterial elevada é um dos critérios necessários para o diagnóstico da SM, evidenciando que essa condição é encontrada em mais de 80% dos indivíduos portadores da síndrome. Obesidade e RI apresentam mecanismos fisiopatológicos que estão fortemente associados a HAS (KUMARI; KUMAR; KANT, 2019).

Indivíduos obesos apresentam acúmulo de tecido adiposo visceral (Figura 7A) que desempenha um importante papel na produção e secreção de adipocinas, induzindo distúrbios metabólicos. O excesso de TNF- α , IL-6, leptina, ácidos graxos não esterificados, ativação do hipotálamo-hipófise-adrenal e aumento na reabsorção tubular renal (Figura 7B) com consequente retenção de sódio, contribuem para o desenvolvimento para o aumento da pressão arterial (Figura 7C) (KESSLER, 2021).

Figura 7 – Doenças Metabólicas contribuintes para a HAS



Nota: A) O acúmulo de tecido adiposo visceral em indivíduos obesos provoca um desequilíbrio das adipocinas inflamatórias. B) Estes indivíduos, assim como os que apresentam resistência à insulina, aumentam a reabsorção tubular renal C) provocando a elevação da pressão arterial e D) consequente ativação do SNS e diminuição do NO.

Fonte: A Autora (2022)

Quanto à RI, os indivíduos acometidos apresentam uma ativação do sistema nervoso simpático que regula positivamente os receptores da angiotensina II e reduz a síntese de NO (Figura 7D), levando ao aumento da frequência cardíaca e pressão sanguínea (Figura 7C). Além disso, a insulina possui uma atividade anti-natriurética, levando a uma retenção de sódio e água por uma reabsorção renal (VARGAS VARGAS; VARELA MILLÁN; FAJARDO BONILLA, 2021).

O sistema renina-angiotensina (RAS) também desempenha um papel na regulação da pressão arterial pela modulação do tônus vascular e da função renal. Em indivíduos hipertensos, o RAS apresenta atividade excessiva do eixo Ang-II/ACE/AT1R, este quando ativado induz constrições excessivas das arteriais, ocasionando disfunção endotelial e aumento da pressão arterial (WU et al., 2018).

2.2 ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é uma doença cardiovascular, tratando-se de uma condição inflamatória crônica na camada íntima do endotélio vascular através de um acúmulo de placas carregadas de lipídios, em artérias de médio e grande calibre, resultando no estreitamento e enfraquecimento do vaso, e consequente comprometimento do

fluxo sanguíneo (FROSTEGÅRD, 2013; PEDRO-BOTET; CLIMENT; BENAIGES, 2020). Essa condição patológica quando afeta a circulação do coração, pode causar infarto agudo do miocárdio (IAM) ou condições crônicas, como angina de peito estável. Além disso, a aterosclerose causa muitos acidentes vasculares cerebrais isquêmicos e pode levar à formação de aneurismas (STEFANADIS et al., 2017).

A doença cardiovascular aterosclerótica continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo (LIBBY, 2021). De acordo com dados epidemiológicos, mais de 17 milhões de pessoas morreram de DCVs em 2019, número que representa 32% de todas as mortes globais. Dentro desse percentual de óbitos, cerca de 85% ocorrem devido a ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais (WHO, 2021b).

A aterosclerose é uma doença multifatorial e por isso fatores ambientais, imunológicos e genéticos atuam na formação do ateroma (VALANTI et al., 2021). A doença permanece despercebida no início do seu desenvolvimento até que o entupimento do vaso, ruptura ou a erosão da placa provoque a formação de trombos que obstruem os vasos sanguíneos causando danos no tecido que se torna isquêmico (AHMADI-ABHARI et al., 2017).

Diversos fatores de risco estão associados à aterosclerose, sendo classificados em fatores não modificáveis e fatores modificáveis. Os fatores não modificáveis são aqueles cujo indivíduo não possui controle, como, histórico familiar, anormalidades genéticas e idade avançada. Os fatores de risco modificáveis são aqueles associados ao modo de vida e que podem ser controlados havendo a mudança de hábitos, como por exemplo, obesidade, tabagismo, sedentarismo e estresse, que podem desencadear a hipertensão, diabetes e dislipidemia, e a combinação entre elas, culminando na SM.

Hipóteses que explicam o desenvolvimento da placa aterosclerótica atribuem sua formação a uma resposta inflamatória crônica da parede arterial iniciada por lesão endotelial, sendo esse conceito denominado hipótese de resposta à lesão (STEFANADIS et al., 2017). A resposta inflamatória na aterogênese é mediada por alterações funcionais em células endoteliais, linfócitos T, macrófagos derivados de monócitos e células do músculo liso (GISTERÅ; HANSSON, 2017).

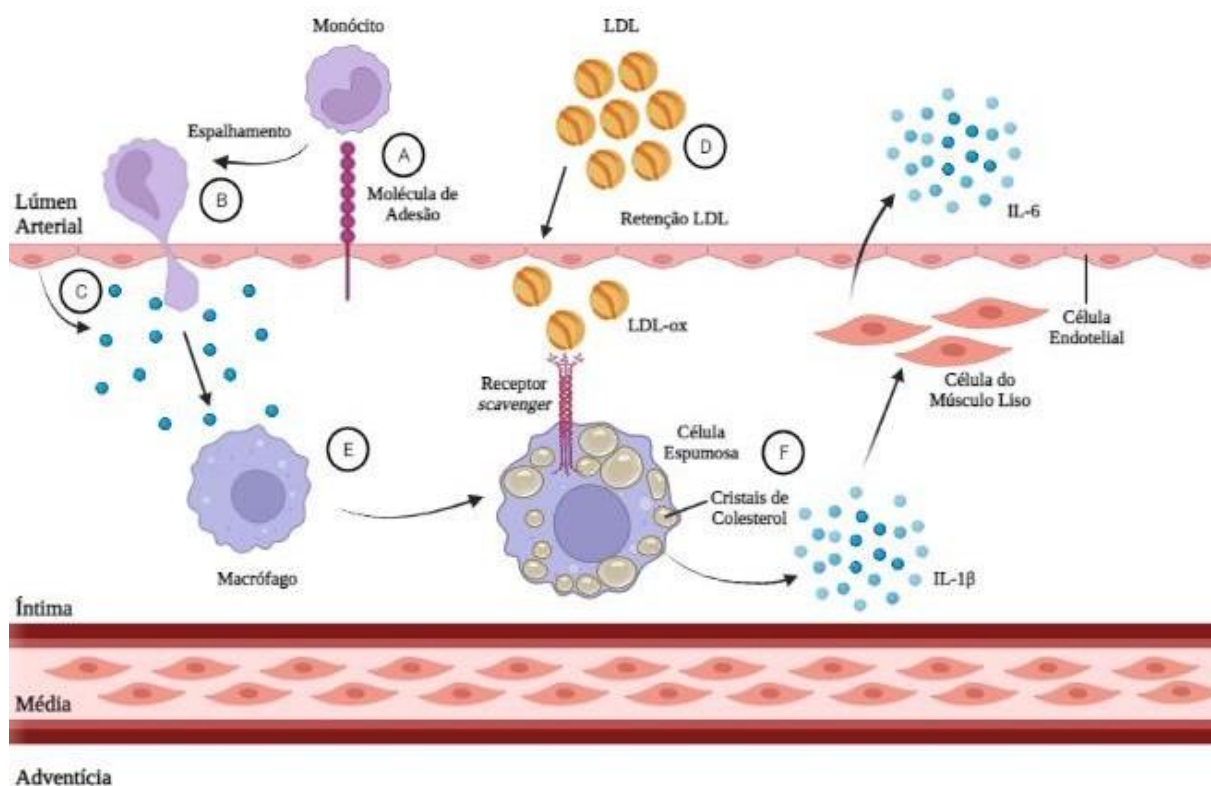
Inicialmente, sabe-se que, em condições normais, as células endoteliais inibem a adesão de leucócitos e plaquetas à superfície vascular. Injúrias endoteliais

estimulam essas células a ativar a expressão de moléculas de adesão de células (CAMs, do inglês *cells adhesion molecules*). Essas moléculas, por sua vez, estão associadas à adesão precoce de leucócitos, como por exemplo, os monócitos, no endotélio arterial em sítios de ateromas iniciais. As principais moléculas de adesão expressas são: moléculas de adesão vascular VCAM-1 mediada pelo NF-kB, ICAM-1 e E-selectina, ou também denominada de molécula de adesão de fase aguda (CUNNINGHAM; GOTLIEB, 2005; LI; LI, 2015).

Acredita-se que a secreção de moléculas de adesão é regulada por citocinas sintetizadas em pequenas concentrações pelo endotélio arterial. Destas se destacam a IL-1, IL-4, TNF- α e interferon- γ (IFN γ) (GISTERÅ; HANSSON, 2017). Devido à disfunção endotelial, as concentrações dessas citocinas aumentam e estimulam a produção das moléculas, além de favorecerem o recrutamento e adesão dos monócitos na superfície endotelial (CUNNINGHAM; GOTLIEB, 2005).

A interação de monócitos e células endoteliais ativadas pela IL-4 é observada em quatro fases distintas, a primeira é a fase de rolamento, onde se estabelece o contato entre monócitos e a superfície endotelial em condições hemodinâmicas normais, sendo mediada pela L-seletina; a segunda fase refere-se à fase de parada, caracterizada pela ativação dos monócitos que se conectam as moléculas de adesão (Figura 8A) (TEDGUI; MALLAT, 2006). Os monócitos aderidos podem se espalhar na superfície apical do endotélio, dando início a terceira fase, chamada de espalhamento (Figura 8B). Quando espalhados, migram para as junções intercelulares e chegam à fase final, onde entram no espaço subendotelial por diapedese (Figura 8C). A VCAM-1 liga-se à classe de leucócitos encontrados em lesões iniciais: monócitos e linfócitos T (GEOVANINI; LIBBY, 2018; GISTERÅ; HANSSON, 2017; WOLF; LEY, 2019).

Figura 8 – Processo de formação da placa aterosclerótica



Nota: Os monócitos se ligam à moléculas de adesão B) e se espalham na superfície endotelial até C) adentrar na camada íntima. D) As moléculas de LDL provocam dano nas células endoteliais e na camada íntima, por estresse oxidativo, forma o LDL-ox. E) Os monócitos se diferenciam em macrófagos na camada íntima e reconhecem as moléculas de LDL-ox F) através dos receptores *scavenger* obtendo a forma de célula espumosa.

Fonte: A Autora (2022)

Níveis elevados de lipídios podem lesionar as células endoteliais e estimular a produção de EROs (Figura 8D). A lipoproteína de baixa densidade (LDL, do inglês *low density lipoprotein*) ao entrar na camada íntima arterial direciona partículas de NO - principal fator de relaxamento endotelial - em proteoglicanos no espaço subendotelial, essa interação pode induzir o estresse oxidativo no LDL, formando o LDL-ox, que desencadeia um processo inflamatório, e leva ao desenvolvimento da aterosclerose (ITABE, 2009; WU et al., 2017). Desse modo, os monócitos, através da ligação a receptores específicos e citocinas, também iniciam o processo de rolamento para se aderirem na íntima. Essa migração só é possível devido a VCAM-1, que aumenta a adesividade das células endoteliais expostas a LDL-ox. Ao se aderirem, as células se diferenciam em macrófagos e englobam as moléculas de LDLox (Figura 8E) (GISTERÅ; HANSSON, 2017).

Os macrófagos, ao englobarem LDL-ox, apresentam essas partículas aos receptores *toll-like* (TLR), como o TLR2 e TLR4, que reconhecem entre vários componentes, os padrões moleculares associados a danos (DAMPs, do inglês *damage-associated molecular pattern*) (MILLER et al., 2003). Em seguida, o Myd88, uma molécula sinalizadora, envia um sinal pró-aterosclerótico pelo aumento da expressão do NF- κ B, e consequentemente estimula citocinas pró-inflamatórias como: IL-1 β , IL-18, TNF- α e IL-6, induzindo a expressão da molécula de adesão ICAM-1, o que pode gerar um estresse hemodinâmico (LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002). Simultaneamente, o macrófago que expressa o receptor *scavenger*, captura o LDL-ox para dentro da célula, porém, pela ausência de enzimas que digerem essas partículas, acumulam LDLox e se transformam em células espumosas, que ficam presas na camada íntima do endotélio vascular (Figura 6F). Além das células espumosas, as placas ateroscleróticas são constituídas por diversos materiais extracelulares, como por exemplo, cristais de colesterol e células em apoptose e necrose (LIBBY, 2021; LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002; MILLER et al., 2003; WU et al., 2017).

O endotélio é uma camada única e contínua de células organizadas em forma de fuso que separa o sangue da parede vascular, e em condições fisiológicas normais, é responsável pela homeostase e tônus vascular (SHEN et al., 2021). O fluxo sanguíneo, com a sua força de cisalhamento (*shear stress*), atua sobre as células endoteliais através de uma cascata de eventos que conduzem à produção de NO, pela enzima eNOS (HEO; FUJIWARA; ABE, 2014; SOUILHOL et al., 2020). Sendo assim, em condições de disfunção endotelial, as moléculas de LDLox estimulam a produção de moléculas pró-inflamatórias em células endoteliais, inibem a produção de NO, diminuem a ação vaso-protetora e aumentam a turbulência do fluxo sanguíneo, causando ataques inflamatórios e hemodinâmicos contínuos na lesão da placa aterosclerótica (LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002). Essa disfunção pode desencadear a formação de trombos e causar infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular encefálico (AVE) (FROSTEGÅRD, 2013; GISTERÅ; HANSSON, 2017).

As etiologias presentes na SM apresentam uma associação com o desenvolvimento da aterosclerose (ABOONABI; MEYER; SINGH, 2019). Na obesidade, por exemplo, o desequilíbrio de citocinas pró-inflamatórias e em

consequência o aumento do estresse oxidativo, contribui para o risco cardiometabólico (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013; LITVINOVA et al., 2014). Além disso, estudo evidencia que para cada unidade de medida elevada do IMC, ocorre um aumento de 8% no risco de DCVs (PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION, 2009). Quanto à HAS, essa etiologia está associada com o enrijecimento da parede arterial e mudanças na estrutura vascular, como também apresenta níveis elevados de mediadores pró-inflamatórios, resultando uma interação entre pressão arterial elevada e inflamação, culminando na aterosclerose (MULÈ, 2014; ROCHLANI et al., 2017).

Na hiperglicemia ocorre a inibição do efluxo de colesterol das células periféricas para HDL, e desse modo, exposição à alta concentração de glicose não apresenta eficiência na remoção de lipídios, acumulando e formando células espumosas. A RI é devido a qualquer alteração na cascata de sinalização da insulina, formando um elo entre a obesidade e HAS (LOPEZ-CANDALES et al., 2017; TANIGUCHI; EMANUELLI; KAHN, 2006). Em relação à dislipidemia, essa etiologia refere-se a um fator de risco independente da aterosclerose. Como descrito por toda revisão acima, a hipercolesterolemia - níveis elevados de LDL – inicia uma cascata de eventos celulares e moleculares que, de acordo com a hipótese de resposta à lesão, pode resultar na disfunção endotelial, formação e instabilidade da placa aterosclerótica (ABOONABI; MEYER; SINGH, 2019; MAHALLE et al., 2014). Diante disso, a regulação da SM é essencial para prevenir a progressão da aterosclerose (XU et al., 2021). De um modo geral, a aterosclerose é uma patogênese complexa que apresenta três aspectos graves: inflamação, alterações no metabolismo lipídico e disfunção endotelial (ABOONABI; MEYER; SINGH, 2019).

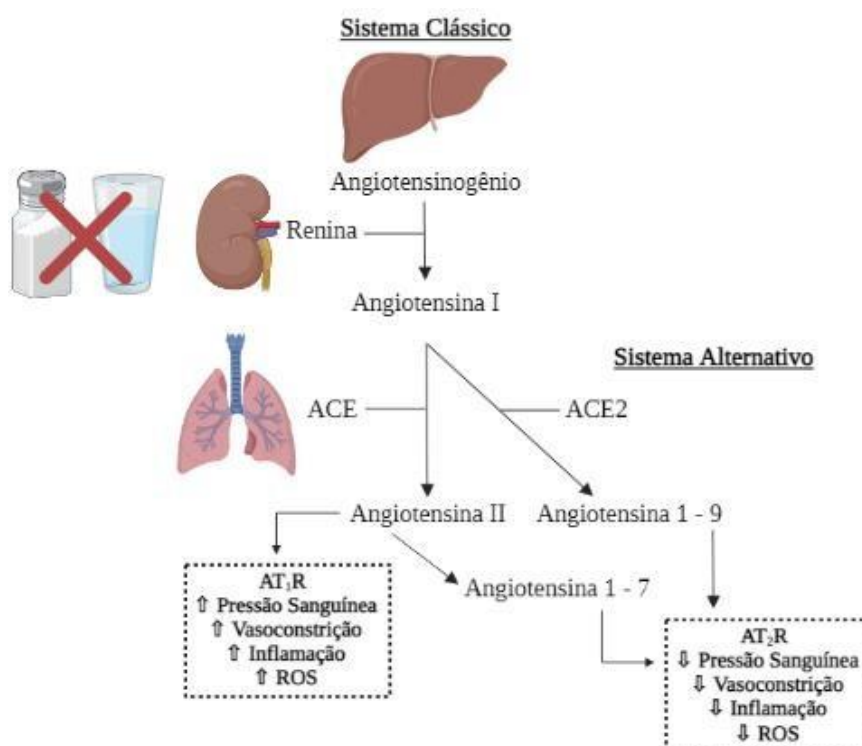
O sistema RAS tem uma participação importante na regulação da resposta inflamatória, através do recrutamento de macrófagos para o local lesado e estímulo da produção de citocinas pró-inflamatórias, assim como a produção de Angiotensina II (Ang-II), componente do sistema, induz a formação de placas ateroscleróticas em estágios iniciais, estimula a produção de EROs e diminui a geração de NO (POZNYAK et al., 2021).

2.3 SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

O Sistema Renina Angiotensina (RAS) é um complexo hormonal que apresenta um papel crítico na fisiologia cardiovascular através de seus efeitos na regulação da pressão arterial e o equilíbrio da homeostase do corpo, modulando o tônus vascular. O RAS e sistema nervoso simpático (SNS) estão conectados por um relacionamento de feedback positivo. Níveis aumentados de leptina e a resistência à insulina aumentam a ativação do SNS e consequentemente do RAS (SARAFIDIS; BAKRIS, 2007).

O funcionamento do RAS ocorre por meio de dois cenários (Figura 9): no sistema clássico, quando ocorre a falta de água e sal, haverá a secreção da renina do aparelho justaglomerular do rim, que é ativada devido à diminuição da pressão renal, excitação do nervo simpático, diminuição dos níveis de sódio (Na) e absorção de potássio (K) no sangue. A protease renina cliva angiotensinogênio produzida no fígado para formar angiotensina I (Ang-I), este ativa o hormônio adrenal, aldosterona, para contrair os vasos sanguíneos e promover a absorção de Na (PATEL et al., 2017).

Figura 9 – Mecanismo Clássico e Alternativo do RAS



Fonte: A Autora (2022)

Ang-I é enzimaticamente convertida em angiotensina II (Ang-II) pela enzima conversora de angiotensina (ECA) na membrana da célula endotelial vascular. Ang-II, através de seus receptores de angiotensina II tipo 1 (AT₁R), tem um forte efeito vasoconstritor, promove a produção e secreção de aldosterona pelas glândulas suprarrenais e ativa a secreção de vasopressina pela glândula pituitária. Assim, esses hormônios aumentam a pressão sanguínea ao contrair os vasos sanguíneos e aumentam a absorção eletrolítica (PAZ OCARANZA et al., 2020).

O RAS também apresenta um mecanismo contra regulatório, ou sistema alternativo, promovido pela enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Nesse caso, o ECA2 pode degradar a Ang-II para produzir angiotensina 1-7, e pode degradar a Ang-I para produzir a angiotensina 1-9 (Figura 4). Evidências apoiam que estes sistemas funcionam para produzir efeitos opostos, sugerindo um papel de contrapeso. De fato, o ECA2, através dos receptores de angiotensina II tipo 2 e tipo 4 (AT₂R e AT₄R, respectivamente), pode desencadear a natriurese, reduzir os níveis de inflamação e apresentam um papel vasodilatador (PATEL et al., 2017; VARGAS VARGAS; VARELA MILLÁN; FAJARDO BONILLA, 2021).

Quando a degradação da Ang-II por ECA2 não é eficiente, os AT₁Rs são super estimulados. A estimulação exacerbada desses receptores pode causar efeitos deletérios, como danos às células endoteliais (vasculopatia), trombose (coagulopatia) e inflamação multissistêmica. Desse modo, altos níveis de Ang-II, o principal produto da ECA, resultam em várias vias de transduções de sinal, como ativação da proteína quinase C (PKC) e a proteína ativadora 1 (AP-1) e está envolvida na produção de radicais livres e regulação da síntese celular de várias moléculas, como citocinas, quimiocinas e fatores de transcrição (THETHI; KAMIYAMA; KOBORI, 2012).

A ativação de AT₁R por ECA/Ang-II induz a liberação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, ocasionando senescência celular e inflamação. PKC aumenta a atividade de enzima pleiotrópica desintegrina e metaloprotease 17 (ADAM17). Quando essa enzima é ativada, muitas proteínas de membrana, como IL-6R e ECA2, são clivadas. Como resultado, a ativação de substâncias pró-inflamatórias como IL-6, transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3), receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e TNF- α levam à uma inflamação crônica (YAMAMOTO et al., 2021).

Esse desequilíbrio do RAS está intimamente associado às doenças mais comuns da humanidade, como as que compõem a SM, obesidade, hipertensão e resistência à insulina, sendo assim, obtendo maior predisposição a doenças ateroscleróticas e risco cardiovascular (DE KLOET; KRAUSE; WOODS, 2010a).

Na hipertensão, as constrições excessivas das artérias causam aumento da pressão sanguínea, ocasionando um comprometimento endotelial e fragilidade vascular. Quanto à obesidade, a Ang-II promove o crescimento de adipócitos e diferenciação, que por sua vez secretam adipocinas pró-inflamatórias, especificamente a leptina. O acúmulo de tecido adiposo na região abdominal ocasiona altos níveis de inflamação, assim como também eleva a pressão arterial e os níveis de glicídios e lipídios. Em relação à DM ainda não existe um mecanismo claro que o RAS participe do desenvolvimento direto dessa doença metabólica, estudos pré-clínicos sugerem que a Ang-II afeta a homeostase da glicose por meio da inibição da transdução do sinal da insulina, redução da captação de glicose, resistência à insulina e destruição das células β -pancreáticas por indução do estresse oxidativo (VARGAS VARGAS; VARELA MILLÁN; FAJARDO BONILLA, 2021).

2.3.1 Gene ACE

A ECA é um componente chave do RAS que contribui para regulação da pressão arterial e desempenha papel importante na produção de Ang-II. O gene *ACE* está localizado no cromossomo 17, especificamente na região 17q23.3. É composto por 26 éxons, 26 íntrons e possui 21kB. Mais de 160 polimorfismos são conhecidos para o gene *ACE*, sendo a maioria deles polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) (VASUDEVA; BALYAN; MUNSHI, 2020).

O polimorfismo mais estudado do *ACE* é o I/D (rs1799752), causado pela inserção (I) ou deleção (D) de um elemento Alumínio (Alu) de 287 pares de bases no íntron 16. Os níveis plasmáticos da ACE estão relacionados ao polimorfismo I/D do gene *ACE* em humanos, sendo que a deleção de uma sequência encontrada no íntron 16 está associada a maiores níveis de transcrição de mRNA e consequentemente, maior expressão da *ACE* (RAHIMI; MORADI; NASRI, 2014; SAYED-TABATABAEI et al., 2006).

O ACE apresenta uma isoforma com 150-180kDa, sendo expressa em células somáticas, como as endoteliais, epiteliais e neuroepiteliais, possui dois domínios homólogos cada um com seu sítio catalítico próprio, os domínios N- e C. Essa isoforma é codificada pelo gene completo, transcrita a partir dos éxons 1 a 26 com exceção do éxon 13, no qual é removido por *splicing*. A outra isoforma apresenta 110kDa e é encontrada em células germinativas masculinas e apresenta um único sítio ativo, o domínio C-. É transcrita a partir de um promotor presente no íntron 12, sendo formada do éxon 13 ao 26. O domínio C- possui maior afinidade com Ang-II, o que sugere o papel regulatório do sistema renina-angiotensina (YAMAMOTO et al., 2021).

Além de regular a pressão arterial, vasoconstrição, ingestão de sódio e excreção de potássio, o gene ACE está intimamente envolvido na ativação das respostas imunológicas. As respostas imunes inatas e adaptativas são elaboradas devido à atuação das células dendríticas, monócitos/macrófagos, e células natural killer (NK) participando do dano ao órgão-alvo, e muitos desses processos patológicos são atribuídos à ativação excessiva do tecido, exercida especialmente pela Ang-II (ZHANG et al., 2021).

Essa atividade excessiva da ECA é um dos principais determinantes de doenças cardio-metabólicas. Quando os vasos sanguíneos são comprometidos devido à hipertensão, obesidade ou diabetes, as células endoteliais são danificadas e a sua função para prevenir aterosclerose é perdida. Isso ocorre pois os macrófagos são abundantes nas placas ateroscleróticas e expressam ACE, consequentemente o aumento de Ang-II induz a expressão de MCP-1, VCAM-1 e E-selectina; migração de células endoteliais e a adesão de células monocíticas humanas. A Ang-II também desempenha papel crítico em doenças inflamatórias e recrutamento de macrófagos como um fator pró-inflamatório (YAMAMOTO et al., 2021).

2.4 MARCADORES INFLAMATÓRIOS DA SÍNDROME METABÓLICA

A inflamação está envolvida no equilíbrio do organismo, na regulação da homeostase e nos processos regenerativos, sendo, portanto, uma resposta fisiológica do organismo à estímulos químicos, físicos ou biológicos (MONTEIRO; AZEVEDO, 2010). Também está envolvida em reações de fase aguda e resposta

imunológicas contra patógenos e danos oxidativos (HIRANO, 2021). A inflamação é caracterizada pela produção de mediadores inflamatórios, que por sua vez desregulam a homeostase tecidual e culminando em doenças inflamatórias crônicas não-transmissíveis, como SM e DCVs (LEUTI et al., 2020; VOLP et al., 2008).

A SM é reconhecida como um estado pró-inflamatório e pró-trombótico, a obesidade é considerada o fator de risco central, enquanto a resistência à insulina é considerada um elo que faz com que os outros fatores, como dislipidemia e hipertensão, se agrupem e formem uma única fisiopatologia. Defeitos da ação da insulina nos tecidos-alvo (músculo, fígado e tecido adiposo) induz a uma redução na síntese do glicogênio e transporte de glicose, redução da eficácia das vias de sinalização e descompensação das células β -pancreáticas para manter a glicemia, todo esse conjunto leva ao aumento do processo inflamatório crônico (GLUVIC et al., 2016).

Quanto à obesidade, o tecido adiposo é considerado um órgão endócrino e parácrino biologicamente ativo. Os adipócitos sofrem hipertrofia e hiperplasia em resposta ao excesso nutricional o que pode fazer com que as células ultrapassem seu suprimento sanguíneo com a indução de um estado de hipóxia. A hipóxia pode levar à necrose celular com infiltração de macrófagos e produção de adipocinas (KUMARI; KUMAR; KANT, 2019).

Uma variedade de células do sistema imune participa do processo complexo da inflamação, como linfócitos B, linfócitos T, células mieloides, células epiteliais, fibroblastos, células endoteliais, células musculares e adipócitos, estas interagem entre si através de fatores solúveis, como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, induzindo a resposta inflamatória (HIRANO, 2021). Citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-6, e citocina anti-inflamatória, como IL-10, podem desempenhar papéis na inflamação e ser considerados como biomarcadores inflamatórios em indivíduos acometidos com a SM.

2.4.1 IL-6

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pleiotrópica, pró-inflamatória, que apresenta diversos papeis fisiopatológicos. A IL-6 também está envolvida na inflamação, resposta imune, hematopoiese, desenvolvimento embrionário e outros processos fundamentais (TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014).

O gene que codifica *IL-6* está localizado no cromossomo 7, na região 7p15.3, e sua proteína traduzida é secretada por monócitos, macrófagos, osteoblastos, adipócitos, células endoteliais, células β -pancreáticas e miócitos. Devido a isso, essa citocina apresenta muitas funções endócrinas, entretanto, mesmo presente em diversos tipos celulares, a *IL-6* é bastante produzida e liberada pelos adipócitos do tecido adiposo branco. Os indivíduos obesos possuem um estado crônico de inflamação de baixo grau e infiltração de macrófagos nas células do tecido adiposo e desse modo, a *IL-6* está presente na regulação de vários aspectos metabólicos, como eliminação de glicose, lipólise, metabolismo oxidativo e gasto de energia (JORGE et al., 2017; SAGIV-FRIEDGUT et al., 2010; TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014).

Essa citocina atua em diferentes órgãos e tecidos, isoladamente ou em conjunto com outros biomarcadores modula o processo inflamatório local e sistêmico, devido a sua associação com a RI, hipertensão, aterosclerose e eventos cardiovasculares. Notavelmente, pacientes que apresentam essas características da SM citadas acima, também apresentam níveis elevados dessa citocina (MCCRACKEN; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2018).

A síntese da *IL-6* ocorre quando as células imunes reconhecem padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular pattern*) - moléculas exógenas microbianas - ou DAMPs - moléculas que causam danos teciduais e morte celular, como necrose e piroptose. Diante disso, indivíduos com doenças cardio-metabólicas apresentam a liberação de DAMPs por meio de moléculas secretadas por adipócitos e/ou células endoteliais quando sofrem estresse oxidativo por ROS, estas são reconhecidas por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como por exemplo, os TLRs e uma diversidade de outros receptores, como receptores indutíveis por ácido retinóico, receptores semelhantes a domínios de oligomerização de ligação a nucleotídeos e receptores de DNA, são ativados. Estes estimulam elementos para a ligação do fator de transcrição, como proteína ativadora 1 (AP-1) e elementos responsivos ao monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), e as vias de sinalização como NF- κ B e via STAT-3, que apresentam uma interação sinérgica, quando ativadas aumentam a transcrição do mRNA de diversas citocinas inflamatórias, como a *IL-6* (HIRANO, 2021; TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014). O controle pós-transcricional do

mRNA do IL-6 também é envolvido na sua expressão gênica. Isso ocorre quando um microRNA induzido por STAT3 ativa NF- κ B, resultando na indução da expressão do IL-6 (HIRANO, 2021).

Todo esse mecanismo molecular da sinalização de IL-6 descrito acima, é mediado pelo receptor da IL-6 (IL-6R) que é composto por uma molécula de receptor de ligação α da IL-6 (IL-6R α) e por meio de um transdutor de sinal, a proteína de sinalização IL6ST, também conhecida como gp130. Para a atividade da IL-6, uma sinalização canônica é emitida a partir da sua ligação ao complexo IL-6R α /gp130 na superfície da membrana plasmática, sendo expressa geralmente em linfócitos e hepatócitos. No entanto, a IL-6 também apresenta a sinalização não-canônica (ou sinalização *trans*), em que ocorre a interligação com a forma solúvel de IL-6R α (sIL-6R α) e pode atuar em células que expressam apenas gp130, como células do músculo cardíaco e adipócitos. Tanto a forma canônica, quanto a não-canônica ativam a via JAK1-STAT3 e estimulam a sinalização de IL-6. Nos hepatócitos, causa o aumento da tolerância à glicose e à insulina, no tecido adiposo aumenta a secreção de leptina, aumenta a lipólise e promove a gliconeogênese hepática. Nas células endoteliais, o sIL-6R α , induz ativação de STAT3, expressão de quimiocinas e aumento de ICAM-1, contribuindo para inflamação local e ativando o recrutamento de leucócitos (HAN et al., 2020; HIRANO, 2021).

2.4.2 IL-1 β

A interleucina 1-beta (IL-1 β) pertencente à família das IL-1, é uma das principais citocinas pró-inflamatórias sintetizada predominantemente por monócitos, macrófagos e células dendríticas. É considerado um contribuidor chave para a patogênese de doenças metabólicas (MAI; LIAO, 2020).

O gene *IL-1 β* está localizado no cromossomo 2, na região 2q13, e o controle da sua produção é rigidamente regulado e depende de dois sinais. O primeiro, um sinal pró-inflamatório estimula a transcrição de *IL-1 β* com armazenamento subsequente de pró-IL-1 β inativo na célula. Um segundo sinal, então, induz a produção de IL-1 β madura ativa por clivagem de seu precursor, a proteína pró-IL-1 β , pela enzima caspase-1, que é ativada em um grande complexo multiproteico plasmático denominado inflamassoma (ESSER et al., 2014b), que é abordado com mais detalhes abaixo.

Inflamassomas são componentes centrais da resposta imunológica inata e podem reconhecer produtos microbianos, relacionados à PAMPs, e moléculas endógenas, relacionadas à DAMPs, por PRRs. A ativação desse complexo ocorre pelo reconhecimento de receptores do tipo NOD, pertencentes à família *NOD like receptors* (NLRs). Entre vários NLRs que formam o complexo inflamassoma, evidências indicam um papel importante da família NLRP3 na progressão da obesidade ao DM2 (GREBE; HOSS; LATZ, 2018).

Estruturalmente o NLRP3 é constituído de um domínio NACHT, um domínio pirina (PYD), uma repetição rica em leucinas (LRRs) e um domínio de recrutamento de caspases (CARD). Diante de uma exposição da célula a determinado risco, ocorre a oligomerização do receptor e incorporação dos domínios PYD e CARD, formando uma proteína adaptadora ASC (ou PYCARD). Desse modo, o domínio CARD se liga à pró-caspase-1 que ao se autoclicar forma a caspase-1 ativa, sendo capaz de processar a pró-IL-1 β em citocina ativa. A ativação canônica desse complexo requer dois sinais independentes: um sinal de preparação inicial e um outro sinal para o NLRP3 ser totalmente ativado (KELLEY et al., 2019; MAI; LIAO, 2020; MANGAN et al., 2018).

O sinal primário começa quando PAMPs, e outros mediadores inflamatórios como IL-1 β e TNF- α , se ligam a seus respectivos receptores, e induzem a ativação do NF- κ B, que promove a transcrição de genes dependentes de NF- κ B, como NLRP3, pró-IL-1 β e pró-IL-18. Um segundo sinal pode ser iniciado através de vários estímulos extracelulares, como cristais de colesterol e ácido úrico, que induzem a liberação de ROS e desencadeia danos mitocondriais, promovendo a oligomerização do NLRP3 (LÓPEZ-REYES et al., 2020), como descrito anteriormente.

Essa via de sinal NF- κ B é ativada através da fosforilação e ubiquitinação após a ligação de IL-1 β a IL-1R1, por exemplo. Após a ativação dos sinais inflamatórios, a I κ B quinase (IKK) fosforila a proteína I κ B α , levando à ubiquitinação desta e à separação do I κ B α do NF- κ B. NF- κ B é assim ativado e transloca-se para o núcleo, então se liga a sequências de DNA específicas. Em seguida, o complexo DNA/NF- κ B recruta outras proteínas e aumenta a transcrição e tradução de genes mediadores inflamatórios (GREBE; HOSS; LATZ, 2018).

Para a ativação final do NLRP3, ocorre a clivagem da gasdermina D (GSDMD) pela caspase-1, resultado na liberação de fragmentos N-terminais de

GSDMD, o que permite a formação de poros nas membranas celulares. Diante da formação desses poros, ocorrerá a liberação desenfreada do conteúdo citosólico, causando a disseminação de IL-1 β que induzem a morte celular por piroptose (BIASIZZO; KOPITAR-JERALA, 2020; LIU et al., 2016).

A ativação do NLRP3 e a produção subsequente de IL-1 β é encontrada nas células β -pancreáticas e macrófagos filtrantes das ilhotas induzida pela exposição crônica a altos níveis de ácidos graxos livres e glicose, levando ao aumento da apoptose e secreção da insulina pelas células β -pancreáticas (SCHULZE et al., 2020).

O NLRP3 atua como um sensor de perigo metabólico que se acumulam durante a obesidade, incluindo níveis elevados de glicose e ácidos graxos livres saturados. Outros sinais pró-inflamatórios como os cristais de colesterol ou lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL-ox) acumulada sob a região íntima do músculo cardíaco, trazendo múltiplos efeitos na aterosclerose. Sendo assim, a sua ativação e expressão gênica resulta na expressão da IL-1 β , desencadeando uma inflamação exacerbada (MUHAMMAD; AYOUB; IRATNI, 2021).

2.4.3 IL-10

A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina com funções imunossupressoras pleiotrópicas e uma potente mediadora anti-inflamatória (WANG et al., 2019). É produzida principalmente por células CD8+, mas também é expressa por células Th2, como outras do sistema imune inato e adaptativo, entre elas, os monócitos/macrófagos, células dendríticas, mastócitos, eosinófilos, neutrófilos, células NK, células TCD4+ e células B (SUN et al., 2021).

Quanto à função biológica, a principal atuação conhecida da IL-10 é inibir a ativação de células Th1, e diminuir a função citolítica e secretora de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IFN- γ e TNF- α , e consequentemente facilitar o desenvolvimento de respostas Th2, evitando dano ao indivíduo e mantendo a integridade da função tecidual (SARAIVA; VIEIRA; O'GARRA, 2020).

Em relação à estrutura e função gênica, o *IL-10* está localizado no cromossomo 1 (1q) e possui polimorfismos funcionais na região promotora, que incluem duas repetições dinucleotídicas de citosina e adenina e três bialélicos (-1082, -819 e -592), designados a partir do sítio de início da transcrição (+1) (STANCZUK et al.,

2001). A IL-10 apresenta uma estrutura homodimérica e sinaliza através de receptores heterodímeros, compostos por subunidades alfa e beta do receptor de classe II. A subunidade alfa apresenta maior afinidade para o ligante da citocina, quando comparado a subunidade beta, e por isso, a IL-10 usa exclusivamente IL-10RA, que é altamente expresso em leucócitos (AIT-OUFELLA et al., 2011).

Este receptor sinaliza através de Janus tirosina quinases (JAKs, do inglês *Janus tyrosine kinases*) e transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs, do inglês *signal transducers and activators of transcription*). A subunidade alfa está associada a Jak1, enquanto Jak2 ou Tyk2 estão ligados à subunidade beta. Quando ocorre a ligação do ligante da IL-10, inicia-se o recrutamento e fosforilação de STATs, principalmente a STAT1 ou STAT3, que por sua vez formam homodímeros e heterodímeros que se translocam para o núcleo e consequentemente induzir a transcrição (NEUMANN; SCHEFFOLD; RUTZ, 2019; SARAIVA; VIEIRA; O'GARRA, 2020).

Doenças cardio-metabólicas são conhecidas pela alteração da resposta imunológica e desbalanço das citocinas pró- e anti-inflamatórias. Por inibir a síntese de citocinas, níveis circulantes de IL-10 elevados promove um efeito anti-inflamatório e melhor prognóstico, já baixos níveis circulantes de IL-10 podem trazer a informação de pior evolução clínica (BARCELOS et al., 2019; RAFAQAT, 2021). Em um estudo transversal foi visto diminuição dos níveis de IL-10 em mulheres obesas em comparação a mulheres com peso normal (ESPOSITO et al., 2003). Da mesma forma, estudo proposto por (van Exel et al. 2002) relataram níveis diminuídos de IL-10 em indivíduos com SM e DM2.

Em relação a aterosclerose, a IL-10 inibe a atividade das células espumosas, alterando o metabolismo lipídico. Além disso, exerce efeitos anti aterogênicos durante o desenvolvimento da placa aterosclerótica, uma vez que a aterogênese é iniciada pelo recrutamento de monócitos para a camada íntima do endotélio vascular, seguido por uma ativação inflamatória (RAFAQAT, 2021). Estudo em humanos revela que a IL-10 pode reduzir a gravidade das respostas inflamatórias e contribuir para melhorar a função e remodelação do ventrículo esquerdo com efeitos na ativação da fibrose e angiogênese após infarto do miocárdio (KRISHNAMURTHY et al., 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO, EXAMES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS

A pesquisa realizada foi um estudo experimental, analítico e prospectivo, no qual foi incluído um total de 133 indivíduos. Estes indivíduos foram distribuídos em quatro grupos: indivíduos com SM, indivíduos com duas características clínicas (2CC), indivíduos com uma característica clínica (1CC) e um grupo englobando controles saudáveis. Os critérios de inclusão e exclusão são relatados na tabela 1. O grupo de SM contabilizou 56 indivíduos que tiveram lesões ateroscleróticas confirmadas pelo exame de angiografia e então subdivididas em dois grupos de acordo com a gravidade da doença. O grupo de indivíduos com lesões ateroscleróticas severas (LAS, $n = 25$) foi caracterizado pela presença de três ou mais estenoses que acometeram pelo menos 70% do vaso, enquanto para o grupo de indivíduos com lesões ateroscleróticas primárias (LAP, $n = 25$) foi incluído um máximo de três estenoses envolvendo até 30% da artéria, descrito na Tabela 1 – estes critérios foram definidos em conjunto com o médico especialista e conforme estudo de BORBOREMA et al. (2020). Os indivíduos dos grupos de 1CC ($n = 31$) e 2CC ($n = 22$) apresentavam doenças cardio-metabólica, como: HAS, dislipidemia, circunferência abdominal elevada e/ou obesidade. O grupo controle foi composto por 24 indivíduos saudáveis que não apresentavam nenhum dos critérios de exclusão para doenças cardio-metabólicas, citadas anteriormente ou quaisquer condições inflamatórias e infecciosas crônicas, bem como autoimunes.

Todos os indivíduos participantes foram recrutados/coletados no Laboratório de Hemodinâmica, do Hospital da Ilha do Leite, Recife/PE – Brasil, e o estudo foi desenvolvido no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), no setor de Biologia Molecular e no Laboratório de Genética e Biologia Molecular Humana (LGBMH), ambos na UFPE.

3.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todos os procedimentos realizados estavam de acordo com os padrões éticos do comitê de pesquisa institucional e/ou nacional e com a declaração de Helsinque de 1964 e suas alterações posteriores ou padrões éticos comparáveis (Comitê Nacional

de Ética em Pesquisa com Amostras Biológicas Humanas – PLATAFORMA BRASIL, sob o número de registro 16441813.1.0000.5208). Os indivíduos incluídos no estudo preenchem os critérios de inclusão/exclusão e só participaram da pesquisa após concordarem e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Além disso, as participações foram de forma voluntária e não resultaram em impacto no tratamento médico.

Tabela 1 – Critérios de Inclusão e Exclusão dos Indivíduos do Estudo

Indivíduos com doenças metabólicas^{a,b,c}		doenças cardio-		Controles Saudáveis	
Critério de Inclusão		Critério de Exclusão		Critério de Inclusão	Critério de Exclusão
Hipertensão arterial sistêmica		Indivíduos com doenças inflamatórias, infecciosas ou autoimune		Indivíduos Saudáveis	Indivíduos com obesidade, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, doenças inflamatórias crônicas, infecciosas ou autoimune.
<i>Diabetes mellitus</i> (Resistência à Insulina e hiperglicemia)					
Dislipidemia					
Circunferência abdominal elevada					
Obesidade					
<i>Subgrupos para Indivíduos com SM:</i>					
<i>Indivíduos com Lesões Severas (LAG)</i>					
Indivíduos com ≥ 3 estenoses afetando $\geq 70\%$ do vaso		Indivíduos com < 3 estenoses afetando $\geq 70\%$ do vaso			
<i>Indivíduos com Lesões Primárias (LAI)</i>					
Indivíduos com ≤ 3 estenoses afetando $\leq 30\%$ do vaso		Indivíduos com > 3 estenoses afetando $\leq 30\%$ dos vasos			

^aPara indivíduos com SM: ter pelo menos três das cinco principais condições clínicas.

^bPara indivíduos com 2CC: ter exatamente duas das cinco principais condições clínicas.

^cPara indivíduos com 1CC: ter exatamente uma das cinco principais condições clínicas.

Fonte: A Autora (2022)

3.3 ISOLAMENTO DE RNA

O RNA total foi isolado usando o reagente Trizol® e seguindo as instruções do fabricante. Após a coleta de sangue total periférico em tubo com ácido etilenodiaminotetracético (E.D.T.A.), 250µL de sangue total foi transferido para um tubo com 750µL de Trizol® e homogeneizado vigorosamente, seguindo para um período de 10 minutos de descanso em temperatura ambiente, essas células foram transferidas para um tubo, onde foi acrescentado 150µL de clorofórmio, em seguida realizou uma agitação vigorosa e os tubos centrifugados a 12.000rpm, durante 15 minutos a 4°C.

Após a separação por gradiente de densidade, apenas a fase translúcida do material foi transferida para um outro tubo, no qual acrescentou-se a amostra 375µL de isopropanol (100%) para fixação do RNA.

A amostra foi incubada a temperatura ambiente por 10 minutos e centrifugada a 12.000rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado, e ao pellet adicionado 750µL de etanol (75%). O tubo foi vortexado brevemente e centrifugado a 7.500rpm por 5 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado, e após secagem completa da amostra, o pellet ressuspendido em 30µL água ultrapura. A amostra homogeneizada ficou incubada a 55°C por 15 minutos.

O controle de qualidade das amostras foi realizado através de espectrofotometria (Nanodrop 2000c – Thermo Scientific) para quantificação de ácidos nucleicos e por eletroforese para verificação da integridade do material. A eletroforese foi feita em gel de agarose a 0,8%, tampão TBE a 0,5x (tris, ácido bórico e EDTA) e 4µL de brometo de etídio RNase free a 1%, durante 20 minutos a 60 volts, para posterior visualização da amostra no transiluminador.

3.4 SÍNTESE DE DNA COMPLEMENTAR (CDNA)

A concentração padrão de RNA total para síntese de cDNA considerada padrão neste trabalho foi de 500ng. O cDNA foi sintetizado usando o kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (ThermoFisher). Inicialmente 500ng de RNA foram diluídos em 10µL de água. Na amostra foi adicionado 10µL de um mix composto por 10x RT Buffer, 25x dNTP Mix (100mM), 10x RT Random Primers e MultiScribe Reverse Transcriptase. Em seguida, a amostra foi encaminhada ao termociclador para um ciclo de 10 minutos a 25°C, 120 minutos a 37°C e 5 minutos a

85°C. Por fim, a amostra foi diluída em 80µL de água e armazenada em freezer a -20°C.

3.5 ENSAIOS DE EXPRESSÃO GÊNICA

Os ensaios de expressão gênica foram realizados de acordo com a normas propostas de padronização por Livak (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001). Foram usadas sondas fluorogênicas específicas do tipo Taqman (Thermo Fisher Scientific), para os genes alvo *ACE* (Hs00174179_m1), *IL-1 β* (Hs01555410_m1), *IL-6* (Hs00174131_m1) e *IL-10* (Hs00961622_m1)

A normalização da expressão relativa dos genes alvos foi realizada com o gene endógeno *β -2 microglobulin (B2M)*, de acordo com indicação de estabilidade da expressão em sangue periférico e o ensaio foi realizado usando metodologia de SyBR Green (F- TGAGTGGCATGAAGAAGGTGT e R- GGCAGTTCTTTGCCCTCTCT). Os ensaios foram realizados em triplicata técnica.

Inicialmente as amostras de cDNA foram descongeladas. O preparo da reação iniciou-se aplicando 2µL da amostra em placa/tubo óptico e adicionado uma reação composta de 6µL água ultrapura, 6µL TaqMan® MasterMix Universal (Thermo Fisher Scientific) e 0,6µL de cada sonda de expressão TaqMan® para os genes *ACE*, *IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10*, obtendo um total de 14,6µL/poço. Para o gene *B2M* a reação foi composta por 2µL 4,4µL água ultrapura, 3µL SyBR Green mix e 1,6µL dos pares de iniciadores *forward/reverse* (F/R), obtendo um total de 11µL/poço.

Os ensaios de quantificação foram realizados no equipamento ABI7500 (Applied biosystems) e o método de análise foi pela equação $2^{-\Delta\Delta C_q}$ para a quantificação relativa da expressão gênica.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios de expressão gênica foram realizados em triplicata técnica e os resultados apresentados por média do grupo e desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 4.1.2. Para verificar a distribuição das amostras, foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Por fim, o teste paramétrico Teste T Student ou One-Way ANOVA foram aplicados nas análises normalizadas, e o teste não-paramétrico Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis foi aplicado nas análises não normalizadas, considerando como estatisticamente significativo $p < 0,05$ em um intervalo de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS DOS INDIVÍDUOS EM ESTUDO

A tabela 2 apresenta os aspectos demográficos e clínicos dos indivíduos com SM e com outras condições clínicas, este subdividido em 1CC e 2CC. Quanto ao gênero, nota-se que 67,85% dos indivíduos com SM são do gênero feminino, e em relação às outras condições clínicas, são representados com maior percentual do gênero masculino, indicando 51,62% para 1CC e 63,64% para 2CC. Quanto à idade, observa-se uma média de 64,5 anos ($\pm 11,38$) para indivíduos com SM, média de 62 anos ($\pm 10,53$) para indivíduos com 1CC e média de 59 anos ($\pm 10,86$) para indivíduos com 2CC. Em relação à etnia, os indivíduos com SM que se autodeclararam pardos apresentam maior percentual com 46,42%, assim como os indivíduos com 2CC com percentual de 45,45%.

Nos aspectos clínicos, 94,65% dos indivíduos apresentam HAS como uma das características clínicas da SM, enquanto DM2 e dislipidemia apresentam 60,7% e 73,2%, respectivamente. O IMC nesses indivíduos é observado em média de 29,21kg/m², enquanto para circunferência abdominal a média é de 103,16cm para homens e 104,98cm para mulheres. Nos indivíduos com 1CC, 25,8% apresentam HAS, 35,48% apresentam dislipidemia, a média do IMC com cerca de 27kg/m², e a circunferência abdominal com média de 107cm para homens e 88,8cm para mulheres. Quanto aos indivíduos com 2CC 86,36% apresentam HAS, 27,27% apresentam DM2 e 50% com dislipidemia. Quanto ao IMC, apresentam em média 25,18kg/cm² e a circunferência abdominal de 103,57cm para homens e 94,75cm para mulheres.

Em relação aos controles, também descrito na tabela 2, quanto aos aspectos demográficos 54,16% são do gênero feminino, a média de idade é 36 anos e a etnia mais prevalente é parda com 45,83%. Quanto aos aspectos clínicos, nenhum dos pacientes apresentaram distúrbios cardio-metabólico como HAS, DM2 e dislipidemia. A média de IMC é 25,45kg/m² e a circunferência abdominal é de 88cm para mulheres e 95cm para homens.

Tabela 2 – Características Clínicas e Demográficas dos Indivíduos com SM e Controles Saudáveis

Variáveis	Controles	Indivíduos com SM	Indivíduos com condições clínicas	
	N = 24 (%)	N = 56 (%)	1CC N = 31 (%)	2CC N = 22 (%)
Sexo				
Feminino	13 (54,16%)	38 (67,85%)	15 (48,38%)	8 (36,36%)
Masculino	11 (45,84%)	18 (32,15%)	16 (51,62%)	14 (63,64%)
Etnia				
Branco	9 (37,5%)	21 (37,5%)	2 (6,45%)	5 (22,72%)
Pardo	11 (45,83%)	26 (46,42%)	1 (3,22%)	10 (45,45%)
Negro	3 (12,5%)	8 (14,28%)	2 (6,45%)	1 (4,54%)
Não informado	2 (8,33%)	1 (1,8%)	25 (83,88%)	6 (27,29%)
Idade (anos)				
Média (DP)	36 ($\pm 6,37$)	64,5 ($\pm 11,38$)*	62 ($\pm 10,53$)*	59 ($\pm 10,86$)*
IMC (Kg/m²)				
Média (DP)	25,45 ($\pm 2,86$)	29,21 ($\pm 4,03$)*	27 ($\pm 3,63$)	25,18 ($\pm 5,19$)
Circunferência Abdominal (cm)				
Homens (DP)	95 ($\pm 11,76$)	103,16 ($\pm 9,56$)	107 ($\pm 7,07$)	103,57 ($\pm 12,75$)
Mulheres (DP)	88 ($\pm 5,67$)	104,98 ($\pm 11,83$)	88,8 ($\pm 8,72$)	94,75 ($\pm 15,19$)
HAS				
Sim (%)	0 (0%)	53 (94,65%)	8 (25,8%)	19 (86,36%)
Não (%)	24 (100%)	3 (5,35%)	23 (74,2%)	3 (13,64%)
DM2				
Sim (%)	0 (0%)	34 (60,7%)	0 (0%)	6 (27,27%)
Não (%)	24 (100%)	22 (39,3%)	31 (100%)	16 (72,73%)
Dislipidemia				
Sim (%)	0 (0%)	41 (73,2%)	11 (35,48%)	11 (50%)
Não (%)	24 (100%)	15 (26,8%)	20 (64,52%)	11 (50%)
Lesões Ateroscleróticas				
Leve (%)	-	25 (50%)	-	-
Grave (%)	-	25 (50%)	-	-

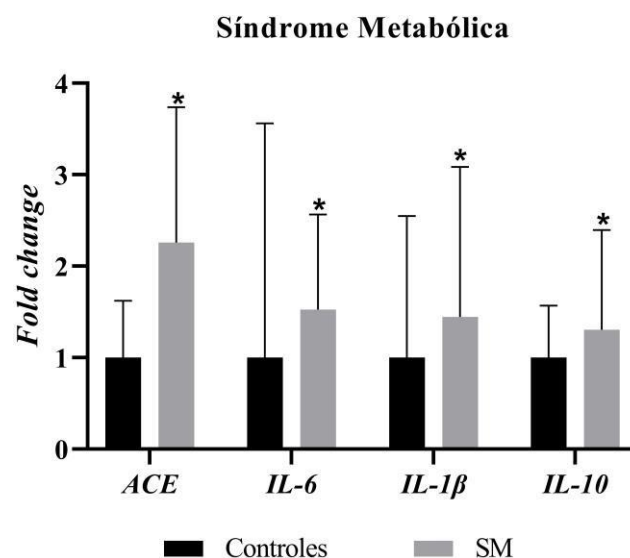
DP: desvio padrão, 1CC: uma condição clínica, 2CC: duas condições clínicas, * p < 0,05 quando comparado ao controle

Fonte: A Autora (2022)

4.2 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA NA SÍNDROME METABÓLICA

Para os níveis de mRNA dos genes *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* (Gráfico 1) em indivíduos com SM (n=56), comparando aos indivíduos controles (n=24), encontramos uma regulação positiva de 2,226 vezes ($p=9,4 \times 10^{-5}$) do gene *ACE*, 1,526 vezes ($p=0,001483$) do *IL-6*, 1,445 vezes ($p=0,005129$) do *IL-1 β* e 1,304 vezes ($p=1,202 \times 10^{-6}$) do *IL-10*.

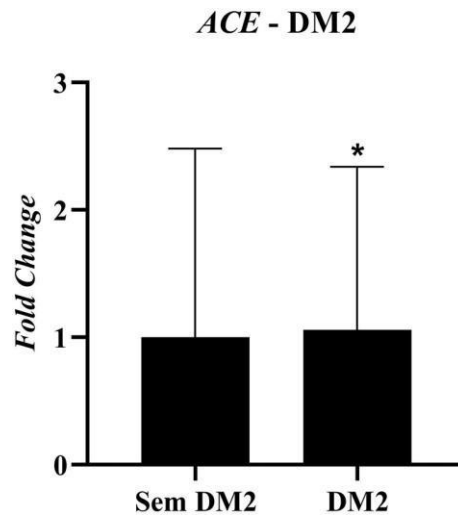
Gráfico 1 – Análise de Expressão Gênica entre indivíduos com SM vs controles



Nota: * $p < 0,05$

Fonte: A Autora (2022)

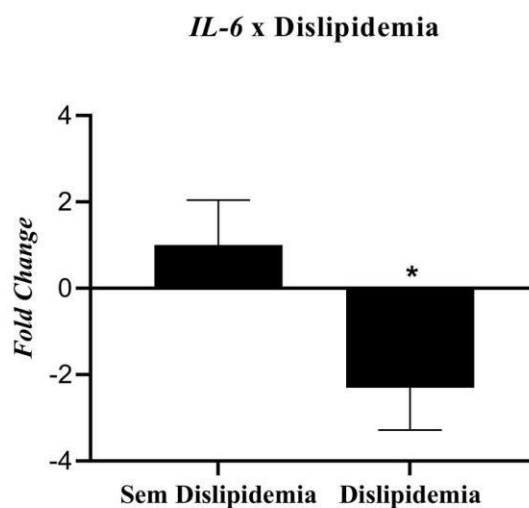
Ao analisar a expressão gênica estratificando as comorbidades existentes dentro do grupo de SM, ou seja, indivíduos com DM2 (n=34) e sem DM2 (n=22), indivíduos com dislipidemia (n=41) e sem dislipidemia (n=15), e em relação ao IMC, subdividindo em indivíduos com sobrepeso (n=16) e obesidade (n=26), foi observado no gene *ACE* um aumento da expressão de 1,058 vezes ($p=0,0367$) ao comparar indivíduos com DM2 vs sem DM2 (Gráfico 2). Ao analisar a comorbidade dislipidemia, assim como sobrepeso e obesidade, não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

Gráfico 2 – Análise de Expressão do gene *ACE* entre indivíduos com DM2 vs sem DM2

Nota: * $p < 0,05$

Fonte: A Autora (2022)

Quanto ao gene *IL-6*, indivíduos com dislipidemia apresentaram regulação negativa da sua expressão de 2,306 vezes ($p=0,0316$) ao comparar com sem dislipidemia (Gráfico 3). As demais comorbidades estratificadas não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

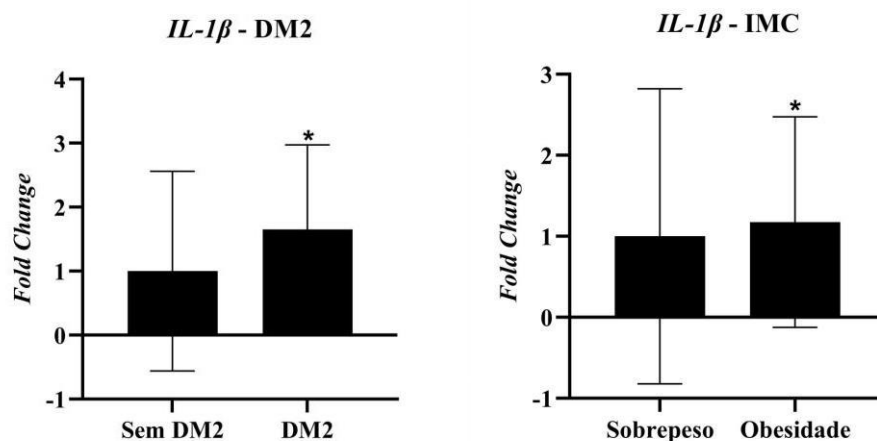
Gráfico 3 – Análise da Expressão do gene *IL-6* entre indivíduos com dislipidemia vs sem dislipidemia

Nota: * $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2022)

Em relação ao gene *IL-1 β* este apresentou regulação positiva tanto para DM2 vs sem DM2 (Gráfico 4 - A), quanto para sobrepeso vs obesidade (Gráfico 4 - B), com 1,651 vezes ($p=0,0004462$) e 1,176 vezes ($p=0,02169$), respectivamente. Em relação à dislipidemia vs sem dislipidemia não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

Gráfico 4 – Análise da Expressão do gene *IL-1B* nas características clínicas estratificadas DM2 e IMC



Nota: A) indivíduos sem DM2 vs com DM2 e B) indivíduos com sobrepeso vs obesidade. * $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2022)

Quanto ao gene *IL-10* não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão em relação às características clínicas da SM.

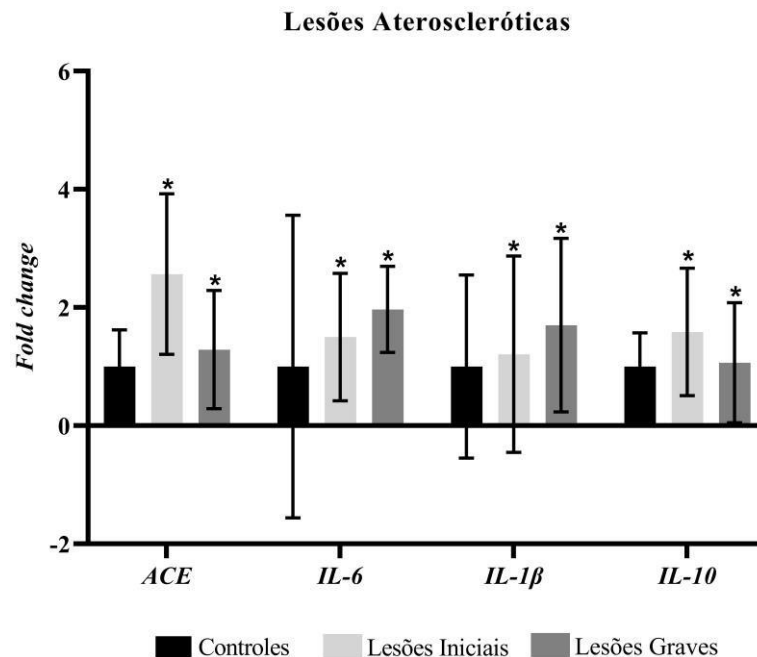
4.3 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA E OS GRAUS DE LESÃO ATEROSCLERÓTICA NA SM

Quando comparada a expressão gênica relativa e o grau de progressão das lesões ateroscleróticas apresentadas pelos indivíduos com SM, foi identificado um aumento na expressão dos genes *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* (Gráfico 5).

Para o gene *ACE* quando estratificado o grupo de SM com aterosclerose em lesões iniciais e graves, verificou-se que este gene se encontra mais expresso em ambos os casos quando comparados ao grupo controle em 2,565 e 1,287 ($p=0,0009058$ e $p=0,000371$), respectivamente. Quando comparado o grupo de

lesões iniciais vs lesões graves não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

Gráfico 5 – Análise de Expressão Gênica de acordo com o grau de lesão aterosclerótica



Nota: * $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2022)

Quando avaliada a expressão do gene *IL-6* entre os grupos estratificados de SM comparados aos controles foi verificado um aumento da expressão deste tanto para o grupo de lesões iniciais de 1,499 vezes, quanto para o grupo de lesões graves de 1,967 vezes, ($p=0,01411$ e $p=0,0004113$, respectivamente). Ao comparar os níveis de mRNA do *IL-6* entre os indivíduos com lesões iniciais vs lesões graves não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

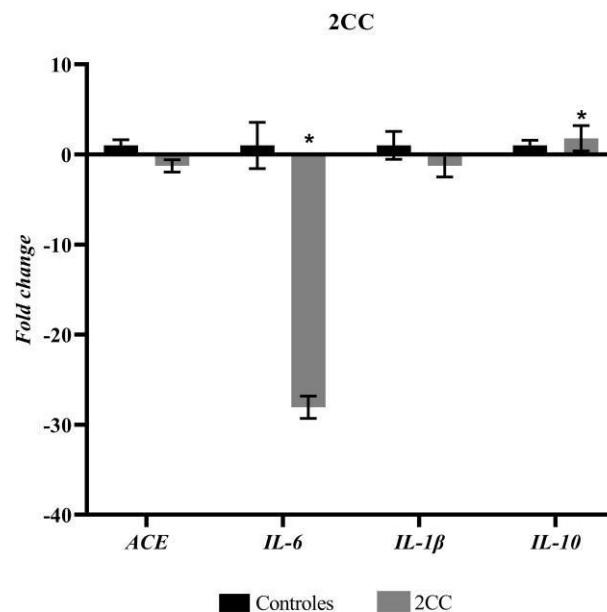
Quando comparada a expressão gênica do *IL-1 β* entre indivíduos com SM e controles, foi verificado uma regulação positiva de 1,209 vezes ($p=0,0487$) para lesões iniciais e 1,701 vezes ($p=0,009549$) para lesões graves. Ao comparar os níveis de mRNA entre os indivíduos com lesões iniciais vs lesões graves não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

Quanto ao gene *IL-10*, é evidenciado uma regulação positiva tanto para lesões iniciais de 1,586 vezes ($p=5,593 \times 10^{-5}$), quanto para lesões graves de 1,064 vezes ($p=0,0002406$). Quando comparados os níveis de mRNA entre os indivíduos com lesões iniciais vs lesões graves não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa da expressão.

4.4 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM INDIVÍDUOS COM 2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Ao comparar os níveis de mRNA dos genes *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* em indivíduos com 2CC (n=22), com indivíduos controles (n=24), encontramos uma regulação positiva de 1,792 vezes ($p=0,002583$) do gene *IL-10* e uma regulação negativa de 28,0779 vezes ($p=0,001653$) do gene *IL-6*. Quanto aos genes *ACE* (-1,27 vezes) e *IL-1 β* (1,492 vezes), estes não apresentaram significância estatística (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Análise da Expressão Gênica entre indivíduos com 2CC vs controles.



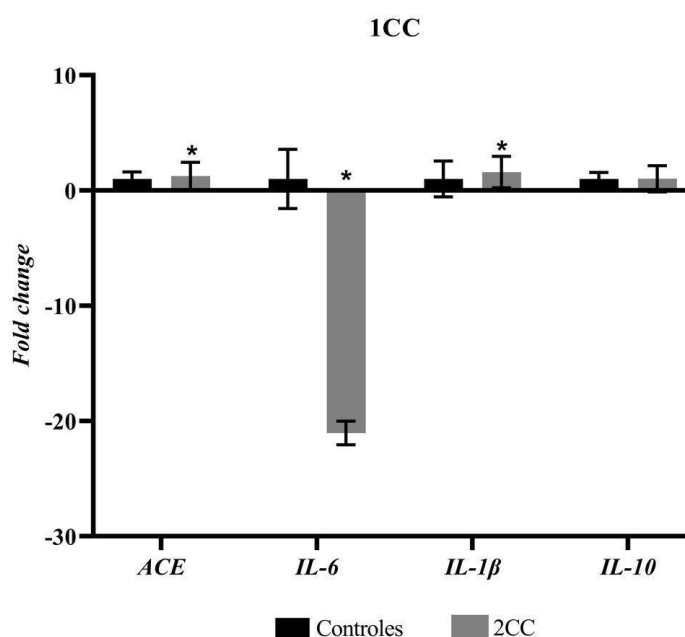
Nota: * $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2022)

4.5 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM INDIVÍDUOS COM 1 CARACTERÍSTICA CLÍNICA

Os níveis de mRNA dos genes *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10* (Gráfico 7) em indivíduos com 1CC (n=31), comparando aos indivíduos controles (n=24), encontramos uma regulação positiva de 1,252 vezes ($p=0,01936$) para o gene *ACE*, uma regulação negativa de 21,0464 vezes ($p=0,01192$) do gene *IL-6*, e uma regulação positiva do gene *IL-1 β* de 1,599 vezes ($p=0,0002413$). Quanto ao gene *IL-10* (+1,022 vezes), este não apresentou significância estatística.

Gráfico 7 - Análise da Expressão Gênica entre indivíduos com 1CC vs controles



Nota: * $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2022)

Ao avaliar os níveis de mRNA dos indivíduos com 1CC isoladamente, a comorbidade dislipidemia apresentou aumento da expressão de 1,014 vezes ($p=0,03309$) do *ACE*, regulação positiva de 2,438 vezes ($p=2,46 \times 10^{-5}$) do *IL-1 β* e uma regulação negativa de 1,0221 vezes ($p=0,001803$) para *IL-10*. Quanto ao gene *IL-6*, não foi observada diferença de expressão e significância estatística. Na comorbidade obesidade, apenas o gene *ACE* apresentou regulação positiva de 1,550 vezes ($p=0,01817$). Nas comorbidades HAS e circunferência abdominal

elevada, estas não apresentaram diferença de expressão e significância estatística em nenhum dos genes estudados.

5 DISCUSSÃO

Muitos estudos indicam que o desenvolvimento da SM culmina ao risco de doenças cardiovasculares devido a um desequilíbrio da atividade da ECA e do perfil inflamatório (GUPTA; GUPTA, 2010; LILLICH; IMIG; PROSCHAK, 2021; PATEL et al., 2017). Até o momento, este é o primeiro estudo através da análise do sangue total de humanos que descreve o perfil de expressão dos genes *ACE*, *IL-6*, *IL-1 β* e *IL-10*.

Em nossos achados, ao comparar os níveis de expressão gênica dos indivíduos com SM vs controles saudáveis foi encontrado um aumento da expressão do gene *ACE*, este gera como produto a ECA – componente do sistema RAS - que é classicamente conhecida por contribuir na regulação da pressão arterial, e desempenhar um papel-chave na produção de Ang-II. Esse conjunto em desequilíbrio pode estar associado a disfunções metabólicas (DE KLOET; KRAUSE; WOODS, 2010b). De acordo com estudos em modelo animal no qual foi induzido SM através de dieta rica em frutose, foi estabelecido o aumento da gordura visceral, hipertensão arterial e hiperglicemia, e nessas condições mostraram aumento transcricional dos genes *Ace* e *At1r* (KIM; DO; KIM, 2020). Por outro lado, em outro estudo realizado usando o mesmo modelo animal e em humanos, mas com restrição alimentar leve e moderada, foi relatada a diminuição dos níveis de mRNA de *AGT* e *ACE*, associado também a diminuição do peso corporal, níveis normais de glicose e do perfil lipídico (PINHEIRO et al., 2017). Isso demonstra que a disfunção do eixo clássico, Ang-II/ACE/AT₁R, pode estar envolvido no estabelecimento da SM, e desse modo, os nossos resultados estão equivalentes com o que está descrito na literatura.

As desordens metabólicas envolvidas na SM provocam um estado de inflamação crônica de baixo grau e uma ativação do sistema imunológico, envolvendo mediadores inflamatórios, para desencadear uma resposta imune e assim aumentar e/ou conter a inflamação (HOTAMISLIGIL, 2006; MONTEIRO; AZEVEDO, 2010). As células Th1 estão associadas a um aumento na produção de IL-6 e IL-1 β , e essas citocinas desempenham papéis importantes na promoção da inflamação, devido ao caráter pró-inflamatório (CHAWLA; NGUYEN; GOH, 2011).

A IL-6 é produzida em diversos tipos celulares, mas (Bahceci et al. 2007) revela que altos níveis de mRNA dessa citocina tem uma correlação positiva com o tamanho dos adipócitos da gordura visceral, e uma correlação negativa desse gene na gordura subcutânea. Interessantemente, estudos mais recentes, realizado tanto em humanos com SM, quanto em modelo animal, revela aumento dos níveis de mRNA da *IL-6* quando analisados em regiões específicas do tecido adiposo visceral, como omental e mesentérico (HAN et al., 2020; LITVINOVA et al., 2014). Além da IL-6, segundo (Frühbeck et al. 2021) outros genes inflamatórios, como TNF, IL-1 e IL-12, são expressos pela gordura visceral através de um desbalanço das adipocinas inflamatórias, e desse modo, a condição metabólica obesidade é considerada um fator central para a SM (GLUVIC et al., 2016). Com base em nossos achados e nos descritos pelos autores citados anteriormente, sugerimos também que essa condição influencie para o estabelecimento da inflamação na SM, pois além da regulação positiva da *IL-6*, todo o grupo do estudo apresenta em média de IMC 29,21kg/m², e tanto os homens, quanto mulheres apresentam circunferência abdominal elevada, principais características da obesidade.

Quanto à IL-1 β , esta é uma citocina ativada pela sensibilização e montagem do inflamassoma NLRP3, sendo um dos mais estudados em doenças metabólicas (DESWAERTE; RUWANPURA; JENKINS, 2017). Estudo em modelo animal induziu o estabelecimento da SM, e os níveis de NLRP3, além dos seus respectivos produtos, IL-1 β e IL-18, apresentaram-se altamente expressos no tecido hepático (ZILU et al., 2019). Também foi visto em outro estudo em modelo animal com SM, níveis aumentados de genes inflamatórios, como IL-1 β e TNF- α , no endotélio do tecido renal (RANGEL SILVARES et al., 2019). Sendo assim, evidenciamos que os nossos achados estão de acordo com a literatura, e destacamos que as citocinas IL-6 e IL-1 β estão envolvidas na resposta inflamatória da SM.

Nosso trabalho também apresentou como achado uma regulação positiva do gene *IL-10*, porém, de acordo com outros estudos, baixos níveis circulantes da IL-10 estão associados à SM (ESPOSITO et al., 2003; VAN EXEL et al., 2002). Apesar dos achados encontrados neste trabalho não corroborarem com a literatura, hipotetizamos que são consistentes com a função biológica da IL-10, por tentar inibir ou conter a ativação de células Th1, ou seja, através de um mecanismo

compensatório (ou imunorregulação), pode conter a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-6, e manter uma resposta inflamatória controlada e evitando maior dano ao indivíduo (ITANI et al., 2020).

Quando avaliamos as características clínicas da SM estratificadas, observamos que a presença de DM2 apresenta aumento dos níveis de mRNA do ACE e IL-1 β . Indivíduos com DM2 apresentam resistência à insulina, e a sua ligação com SM têm sido relacionadas tanto à desregulação do RAS, quanto à ativação do NLRP3 (SKOV et al., 2014). Estudo *in vitro* utilizando miócitos ventriculares de modelo animal cultivado em altas concentrações de glicose, resultou no aumento significativo da síntese do produto gerado pela ACE, o ANG-II (SINGH et al., 2007). Enquanto estudos em modelo animal ambos com dieta rica em gordura e *Nlrp3*^{-/-}, demonstraram menores níveis séricos e de expressão do IL-1 β , maior sensibilidade à insulina e menor inflamação tecidual (STIENSTRA et al., 2010, 2011). Da mesma forma que a obesidade é considerada o fator central, segundo (Gluvic et al. 2016), a RI é considerada o elo entre as demais comorbidades. Como o nosso grupo de indivíduos com SM é representado por mais de 60% com DM2 e todos apresentam características da obesidade, sugerimos que essas condições podem contribuir para o aumento da expressão gênica do ACE e IL-1 β .

Os nossos achados também evidenciam que IL-1 β é mais expressa em indivíduos obesos, quando comparado aos de sobrepeso dentro do grupo de SM. Esse nosso dado, apesar de ser realizado em humanos, está de acordo com a literatura, visto que o estudo de Stienstra et al. (2010), identifica que o *nocaute* do NLRP3 no modelo animal, mesmo havendo uma dieta rica em gordura, são resistentes a obesidade. Diante de todo o exposto, indicamos novamente que a via NLRP3-IL-1 β é contribuinte da inflamação induzida pela obesidade e resistência à insulina na SM.

Em relação à dislipidemia, os níveis de mRNA do IL-6 apresentaram uma regulação negativa. A dislipidemia está relacionada diretamente à formação de placas ateroscleróticas com infiltrados inflamatórios, e os níveis de mRNA para citocinas pró-inflamatórias estão positivamente correlacionados com a progressão da aterosclerose, culminando em DCVs (AIT-OUFELLA et al., 2011). Em nosso banco

clínico mais de 70% dos indivíduos com SM apresenta essa condição clínica e doença aterosclerótica associada, sendo assim, o nosso resultado difere do mecanismo molecular conhecido da dislipidemia, pois todo o grupo faz uso de alguma medicação lipoproteica terapêutica (LT). Estudo realizado em humanos evidencia que o uso desse tipo de medicação está associado à regulação negativa de *IL-6* (STEFANUTTI et al., 2017).

De fato, indivíduos com SM apresentam risco duas vezes maior de ter doença coronariana devido ao desenvolvimento de cardiomiopatia metabólica (ALBERTI et al., 2009). Estudo realizado em modelo animal com *nocaut* duplo (*LDLR^{-/-}*; *ob/ob*, denominado DKO) conseguiu simular características de indivíduos com SM e observar a influência dessas condições clínicas no desenvolvimento do risco cardiovascular, como contração e rigidez ventricular, e a nível celular, os cardiomiócitos apresentaram cinética mais lenta de contração e relaxamento (VAN DEN BERGH et al., 2008).

Apesar da evidência da contribuição genética para a SM influenciar no desenvolvimento da aterosclerose, a expressão gênica individual ainda apresenta dados muito limitados. Com isso, analisamos o nosso grupo de indivíduos com SM e observamos diferentes graus de estenose das artérias coronárias de acordo com a angiografia, e ao classificar em LAP e LAS, notamos que todos os genes apresentavam aumento dos níveis transcricionais quando comparados a controles saudáveis.

De acordo com estudos, o sistema RAS é considerado um fator chave na regulação da resposta inflamatória, isso porque esse sistema, diante de uma lesão aterosclerótica, consegue recrutar os macrófagos para o local de lesão, e este por sua vez expressa Ang-II (PACURARI et al., 2014; POZNYAK et al., 2021). A atividade peptídica do Ang-II mediada por ECA pode contribuir para processos inflamatórios na parede vascular, e isso pode ser confirmado através de um estudo proposto por (Schieffer et al. 2000), que identificou através da imuno-histoquímica a co-localização de Ang-II, ECA e AT₁R, nas artérias coronárias de indivíduos com angina estável, e aqueles com cardiomiopatia isquêmica submetida a transplante cardíaco. Quando a ECA é inibida (denominada ECA-I), o indivíduo pode apresentar

efeito anti-hipertensivo, melhoria do controle glicêmico e sensibilidade à insulina (MIGUEL-CARRASCO et al., 2010). Estudo utilizando o modelo animal DKO, realizou uma caracterização transcricional com ECA-I no coração do animal com SM vs controle, e identificou que o ECA-I parece neutralizar algumas das vias específicas da SM, como por exemplo, diminuição da aterosclerose e melhoria da inflamação (YAKUBOVA et al., 2018). Sendo assim, diante do exposto, podemos inferir que níveis elevados do mRNA do ACE está relacionado com a lesão aterosclerótica e induz o perfil inflamatório, independente do grau de estenose, quando comparados em relação aos controles, e essas informações corroboram com nossos resultados, pois os grupos LAP e LAS apresentaram diferença de expressão em relação a controles.

Schieffer et al. (2000) também propôs em seu trabalho que citocinas pró-inflamatórias são sintetizadas em células musculares lisas e macrófagos após estímulo da Ang-II. Com todo o contexto, nota-se que a inflamação é o foco da aterosclerose e a via pró-inflamatória da IL-6-IL-1 β é considerada por alguns estudos o eixo central (DEBING et al., 2008; PUZ et al., 2013; YAMAGAMI et al., 2004). O acesso a angiografia dos indivíduos com aterosclerose permitiu visualizar o comprometimento do vaso, e os nossos achados identifica o aumento da expressão da IL-6 nestes. Apesar de serem exames angiográficos distintos, na literatura é descrito que a IL-6 foi mais expressa em placas ateroscleróticas de indivíduos submetidos à endarterectomia carotídea (CEA) em comparação com aqueles sem (ZIEGLER et al., 2021). Em conjunto, tanto os nossos resultados, quanto o de Ziegler et al. sugerem que a IL-6 pode desempenhar papel importante na fisiopatologia da aterosclerose.

Quanto à IL-1 β , estudo em humanos avaliaram expressão no tecido adiposo epicárdico de indivíduos com aterosclerose confirmada por TC, e notaram níveis elevados de mRNA tanto em placas coronárias de alto risco vs quem não tinha placa de alto risco, como na ausência da placa coronária calcificada vs presença de placa coronária calcificada (KITAGAWA et al., 2021). Esses resultados encontrados por Kitagawa et al. corroboram com nossos achados, pois tanto indivíduos LAP, quanto LAS, tiveram aumento da expressão desse gene, e confirma que está correlacionado

com a formação de placas ateroscleróticas independente de fatores de risco coronariano, uso de estatinas e gravidade da doença coronária.

Em relação à IL-10, os nossos achados indicam uma regulação positiva desse gene tanto para LAP e LAS, e como mencionado anteriormente, as citocinas anti-inflamatórias podem desempenhar papéis essenciais na imunorregulação da inflamação, e pode representar uma atividade supressora na aterogênese (PASTRANA, 2013; YANG; YIN; WANG, 2008). Estudo *in vitro* utilizando células endoteliais aórtica humana com estímulo lipídico, avaliaram que citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 e IL-35, apresentaram aumento da expressão gênica e dos níveis séricos, e ambas, provavelmente, conseguiram inibir a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , que obteve diminuição dos seus níveis de mRNA e séricos, sugerindo o uso de terapias anti-inflamatórias contra DCVs e outras doenças inflamatórias (LI et al., 2020). Além disso, os nossos resultados mostram maior expressão em indivíduos com LAI, e em concordância com os achados obtidos, um estudo transversal com controles vs SM, identificou que níveis séricos de IL-10 mais elevados estão associados a menor incidência de lesão aterosclerótica grave (BARCELOS et al., 2019). Diante disso, os dados da literatura sugerem um efeito protetor da IL-10 através da sua atividade anti-inflamatória, confirmando a nossa hipótese sugerida na discussão relacionada à SM.

Ao analisarmos os indivíduos que apresentam 1CC e 2CC, nossos achados evidenciam que apenas alguns genes apresentaram, e outros não, diferença de expressão com significância estatística. Como exclusivamente cada uma dessas condições clínicas se comportam ainda não está claro, mas quando as características clínicas que constituem a SM são analisadas não separadamente, mas como um conjunto de processos que constituem uma única patologia (SHERLING; PERUMAREDDI; HENNEKENS, 2017), é possível visualizar as interações entre esses componentes e como as vias regulatórias podem se afetar.

6 CONCLUSÕES

Nesse estudo trazemos como conclusões que os níveis de mRNA dos genes *ACE*, *IL-6* e *IL-1 β* são regulados positivamente em indivíduos com SM quando comparado a controles saudáveis, assim como também ocorre o aumento da expressão destes em diferentes graus de lesões ateroscleróticas.

Em relação ao gene *IL-10*, os níveis transcricionais mais elevados em indivíduos com SM estão associados a menor incidência de lesão aterosclerótica grave, sugerindo um efeito protetor através da sua atividade anti-inflamatória mesmo na presença de níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias.

Ao analisar a expressão gênica no grupo de indivíduos com condições clínicas isoladas HAS, dislipidemia, obesidade e aumento da circunferência abdominal isolada ou combinada em exatamente 2 características, observamos o aumento em apenas algumas condições. Se essa regulação ascendente é um mecanismo causal ainda não está claro, mas é possível indicar que a SM, como uma única doença, se apresenta como um mosaico, e as suas vias metabólicas em desequilíbrio precisam estar conectadas para serem analisadas.

Por fim, sugerimos que esse trabalho pode servir como base para futuros estudos, em que o gene *ACE* e os genes considerados biomarcadores inflamatórios, como *IL-1 β* , *IL-6* e *IL-10*, podem ser potenciais ferramentas de prognóstico para SM.

REFERÊNCIAS

- ABESO. **Mapa da Obesidade - Abeso**. Disponível em: <<https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>>. Acesso em: 27 dez. 2021.
- ABOONABI, A.; MEYER, R. R.; SINGH, I. The association between metabolic syndrome components and the development of atherosclerosis. **Journal of Human Hypertension**, v. 33, n. 12, p. 844–855, 21 dez. 2019.
- AHMADI-ABHARI, S. et al. Physical Activity, Sedentary Behavior, and Long-Term Changes in Aortic Stiffness: The Whitehall II Study. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 8, 2 ago. 2017.
- AIT-OUFELLA, H. et al. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, n. 5, p. 969–979, maio 2011.
- ALBERTI, K. G. M. M. et al. **Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation** *Diabetic Medicine*. [s.l: s.n.].
- ALBERTI, K. G. M. M. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 20 out. 2009.
- BAHCECI, M. et al. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor α , interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 30, n. 3, p. 210–214, 31 mar. 2007.
- BAHIRU, E. et al. Mechanisms and Treatment of Dyslipidemia in Diabetes. **Current Cardiology Reports**, 2021.
- BARAKAT, B.; ALMEIDA, M. E. F. Biochemical and immunological changes in obesity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 708, p. 108951, set. 2021.
- BARAZZONI, R. et al. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. **Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity**, v. 23, n. 2, p. 149–157, 3 abr. 2018.
- BARCELOS, A. L. V. et al. Association of IL-10 to coronary disease severity in patients with metabolic syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 495, p. 394–398, ago. 2019.
- BIASIZZO, M.; KOPITAR-JERALA, N. Interplay Between NLRP3 Inflammasome and Autophagy. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 9 out. 2020.
- BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 288–298, 27 maio 2019.

BORBOREMA, M. E. DE A. et al. Inflammasome activation by NLRP1 and NLRC4 in patients with coronary stenosis. **Immunobiology**, v. 225, n. 3, p. 151940, maio 2020.

BORNFELDT, K. E.; TABAS, I. Insulin Resistance, Hyperglycemia, and Atherosclerosis. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 5, p. 575–585, nov. 2011.

BOVOLINI, A. et al. Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. **International Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 03, p. 199–214, 19 mar. 2021.

CAMERON, A. J.; SHAW, J. E.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 33, n. 2, p. 351–375, jun. 2004.

CHAWLA, A.; NGUYEN, K. D.; GOH, Y. P. S. **Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease**. **Nature Reviews Immunology**, nov. 2011.

CHEN, H. et al. Adiponectin Stimulates Production of Nitric Oxide in Vascular Endothelial Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 45, p. 45021–45026, nov. 2003.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. State of the art paper Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of Medical Science**, v. 2, p. 191–200, 2013.

CUNNINGHAM, K. S.; GOTLIEB, A. I. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. **Laboratory Investigation**, v. 85, n. 1, p. 9–23, 29 jan. 2005.

DE KLOET, A. D.; KRAUSE, E. G.; WOODS, S. C. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. **Physiology and Behavior**, v. 100, n. 5, p. 525–534, jul. 2010.

DEBING, E. et al. Markers of Inflammation in Patients With Symptomatic and Asymptomatic Carotid Artery Stenosis: A Case-Control Study. **Vascular and Endovascular Surgery**, v. 42, n. 2, p. 122–127, 1 abr. 2008.

DESWAERTE, V.; RUWANPURA, S. M.; JENKINS, B. J. Transcriptional regulation of inflammasome-associated pattern recognition receptors, and the relevance to disease pathogenesis. **Molecular Immunology**, v. 86, p. 3–9, jun. 2017.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **The Lancet**, v. 365, n. 9468, p. 1415–1428, abr. 2005.

ESPOSITO, K. et al. Association of Low Interleukin-10 Levels with the Metabolic Syndrome in Obese Women. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 3, p. 1055–1058, 1 mar. 2003.

ESSER, N. et al. Obesity phenotype is related to NLRP3 inflammasome activity and immunological profile of visceral adipose tissue. **Diabetologia**, v. 56, n. 11, p. 2487–2497, nov. 2013.

ESSER, N. et al. **Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes**. **Diabetes Research and Clinical Practice** Elsevier Ireland Ltd, 2014.

FARKHONDEH, T. et al. An Overview of the Role of Adipokines in Cardiometabolic Diseases. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5218, 9 nov. 2020.

FEIJÓO-BANDÍN, S. et al. Adipokines and Inflammation: Focus on Cardiovascular Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7711, 18 out. 2020.

FRANCISCO, V. et al. Adipokines and inflammation: is it a question of weight? **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 10, p. 1569–1579, maio 2018.

FROSTEGÅRD, J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. **BMC Medicine**, v. 11, n. 1, p. 117, 1 dez. 2013.

FRÜHBECK, G. et al. The Differential Expression of the Inflammasomes in Adipose Tissue and Colon Influences the Development of Colon Cancer in a Context of Obesity by Regulating Intestinal Inflammation. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 14, p. 6431–6446, dez. 2021.

GEOVANINI, G. R.; LIBBY, P. Atherosclerosis and inflammation: overview and updates. **Clinical Science**, v. 132, n. 12, p. 1243–1252, 29 jun. 2018.

GISTERÅ, A.; HANSSON, G. K. The immunology of atherosclerosis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 13, n. 6, p. 368–380, 10 jun. 2017.

GLUVIC, Z. et al. Link between Metabolic Syndrome and Insulin Resistance. **Current Vascular Pharmacology**, v. 15, n. 1, p. 30–39, 14 nov. 2016.

GREBE, A.; HOSS, F.; LATZ, E. **NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis**. **Circulation Research** Lippincott Williams and Wilkins, , 2018.

GUPTA, A.; GUPTA, V. **Metabolic syndrome: What are the risks for humans?** **BioScience Trends**. [s.l.: s.n.].

GURKA, M. J. et al. Metabolic syndrome severity is significantly associated with future coronary heart disease in Type 2 diabetes. **Cardiovascular Diabetology**, v. 17, n. 1, p. 17, 19 dez. 2018.

HAN, M. S. et al. Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 6, p. 2751–2760, 11 fev. 2020.

HEO, K.-S.; FUJIWARA, K.; ABE, J. Shear Stress and Atherosclerosis. **Molecules and Cells**, v. 37, n. 6, p. 435–440, jun. 2014.

HIRANO, T. **IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer**. **International immunology**NLM (Medline), , 1 mar. 2021.

HOTAMISLIGIL, G. S. **Inflammation and metabolic disorders**. **Nature**, 14 dez. 2006.

IBRAHIM, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obesity Reviews**, v. 11, n. 1, p. 11–18, jan. 2010.

ITABE, H. Oxidative Modification of LDL: Its Pathological Role in Atherosclerosis. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 37, n. 1, p. 4–11, 6 ago. 2009.

ITANI, H. A. et al. Genomic and Proteomic Study of the Inflammatory Pathway in Patients With Atrial Fibrillation and Cardiometabolic Syndrome. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 7, 2 dez. 2020.

JANUS, A. et al. **Insulin resistance and endothelial dysfunction constitute a common therapeutic target in cardiometabolic disorders**. **Mediators of Inflammation**Hindawi Limited, , 2016.

JORGE, A. S. B. et al. Brown and White Adipose Tissue Expression of IL6, UCP1 and SIRT1 are Associated with Alterations in Clinical, Metabolic and Anthropometric Parameters in Obese Humans. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 125, n. 3, p. 163–170, 1 mar. 2017.

KARAM, B. S. et al. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes. **Cardiovascular Diabetology**, v. 16, n. 1, p. 120, 29 dez. 2017.

KATSIMARDOU, A. et al. Hypertension in Metabolic Syndrome: Novel Insights. **Current Hypertension Reviews**, v. 16, n. 1, p. 12–18, 13 fev. 2020.

KELLEY, N. et al. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3328, 6 jul. 2019.

KESSLER, C. Pathophysiology of Obesity. **Nursing Clinics of North America**, v. 56, n. 4, p. 465–478, dez. 2021.

KIM, M.; DO, G. Y.; KIM, I. Activation of the renin-angiotensin system in high fructose-induced metabolic syndrome. **Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 24, n. 4, p. 319–328, 1 jul. 2020.

KITAGAWA, T. et al. Relationship between interleukin-1 β gene expression in epicardial adipose tissue and coronary atherosclerosis based on computed

tomographic analysis. **Journal of Cardiovascular Computed Tomography**, v. 15, n. 2, p. 175–179, mar. 2021.

KOJTA, I.; CHACIŃSKA, M.; BŁACHNIO-ZABIELSKA, A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1305, 3 maio 2020.

KRAMER, C. K.; ZINMAN, B.; RETNAKARAN, R. Are Metabolically Healthy Overweight and Obesity Benign Conditions? **Annals of Internal Medicine**, v. 159, n. 11, p. 758, 3 dez. 2013.

KRISHNAMURTHY, P. et al. IL-10 Inhibits Inflammation and Attenuates Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction via Activation of STAT3 and Suppression of HuR. **Circulation Research**, v. 104, n. 2, 30 jan. 2009.

KUMARI, R.; KUMAR, S.; KANT, R. **An update on metabolic syndrome: Metabolic risk markers and adipokines in the development of metabolic syndrome. Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews** Elsevier Ltd, , 1 jul. 2019.

LEUTI, A. et al. Bioactive lipids, inflammation and chronic diseases. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 159, p. 133–169, 2020.

LI, S.; LI, J.-J. PCSK9: A key factor modulating atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, v. 22, n. 3, p. 221–230, 2015.

LI, X. et al. Anti-inflammatory cytokines IL-35 and IL-10 block atherogenic lysophosphatidylcholine-induced, mitochondrial ROS-mediated innate immune activation, but spare innate immune memory signature in endothelial cells. **Redox Biology**, v. 28, p. 101373, jan. 2020.

LIBBY, P. The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**, v. 592, n. 7855, p. 524–533, 22 abr. 2021.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 9, p. 1135–1143, 5 mar. 2002.

LIBERMAN, A.; MANSUR, A. **I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA**. [s.l: s.n.].

LILLICH, F. F.; IMIG, J. D.; PROSCHAK, E. Multi-Target Approaches in Metabolic Syndrome. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 12 mar. 2021.

LITVINOVA, L. et al. Role of adiponectin and proinflammatory gene expression in adipose tissue chronic inflammation in women with metabolic syndrome. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 6, n. 1, 2014.

LIU, X. et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 153–158, 6 jul. 2016.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, dez. 2001.

LOPEZ-CANDALES, A. et al. **Linking Chronic Inflammation with Cardiovascular Disease: From Normal Aging to the Metabolic Syndrome** HHS Public Access **J Nat Sci**. [s.l: s.n.].

LÓPEZ-REYES, A. et al. **NLRP3 Inflammasome: The Stormy Link Between Obesity and COVID-19**. **Frontiers in Immunology** Frontiers Media S.A., , 30 out. 2020.

LOVREN, F.; TEOH, H.; VERMA, S. Obesity and Atherosclerosis: Mechanistic Insights. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 2, p. 177–183, fev. 2015.

MAHALLE, N. et al. Study of pattern of dyslipidemia and its correlation with cardiovascular risk factors in patients with proven coronary artery disease. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 18, n. 1, p. 48, 2014.

MAI, W.; LIAO, Y. **Targeting IL-1 β in the Treatment of Atherosclerosis**. **Frontiers in Immunology** Frontiers Media S.A., , 10 dez. 2020.

MANAF, M. R. A. et al. Prevalence of metabolic syndrome and its associated risk factors among staffs in a Malaysian public university. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 8132, 14 dez. 2021.

MANGAN, M. S. J. et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 17, n. 8, p. 588–606, 20 ago. 2018.

MCCRACKEN, E.; MONAGHAN, M.; SREENIVASAN, S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. **Clinics in Dermatology**, v. 36, n. 1, p. 14–20, 1 jan. 2018.
MIGUEL-CARRASCO, J. L. et al. Captopril reduces cardiac inflammatory markers in spontaneously hypertensive rats by inactivation of NF- κ B. **Journal of Inflammation**, v. 7, n. 1, p. 21, 12 dez. 2010.

MILLER, Y. I. et al. Minimally Modified LDL Binds to CD14, Induces Macrophage Spreading via TLR4/MD-2, and Inhibits Phagocytosis of Apoptotic Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 3, p. 1561–1568, jan. 2003.

MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. **Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome**. **Mediators of Inflammation**, 2010.

MUHAMMAD, K.; AYOUB, M. A.; IRATNI, R. Vascular Inflammation in Cardiovascular Disease: Is Immune System Protective or Bystander? **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, n. 18, p. 2141–2150, 24 jun. 2021.

MULÈ, G. Metabolic syndrome in hypertensive patients: An unholy alliance. **World Journal of Cardiology**, v. 6, n. 9, p. 890, 2014.

NEUMANN, C.; SCHEFFOLD, A.; RUTZ, S. Functions and regulation of T cell-derived interleukin-10. **Seminars in Immunology**, v. 44, p. 101344, ago. 2019.
OIKONOMOU, E. K.; ANTONIADES, C. The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. **Nature Reviews Cardiology**, v. 16, n. 2, p. 83–99, 4 fev. 2019.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Mundo tem mais de 700 milhões de pessoas com hipertensão não tratada - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/25-8-2021-mundo-tem-mais-700-milhoes-pessoas-com-hipertensao-nao-tratada>>. Acesso em: 27 dez. 2021.

ORMAZABAL, V. et al. **Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease**. **Cardiovascular Diabetology** BioMed Central Ltd., , 31 ago. 2018.

PACURARI, M. et al. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Vascular Inflammation and Remodeling. **International Journal of Inflammation**, v. 2014, p. 1–13, 2014.

PALOMO, I. Gene expression of adipose tissue, endothelial cells and platelets in subjects with metabolic syndrome (Review). **Molecular Medicine Reports**, 10 fev. 2012.

PASTRANA, J. L. Regulatory T Cells and Atherosclerosis. **Journal of Clinical & Experimental Cardiology**, v. 01, n. S12, 2013.

PATEL, S. et al. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 94, p. 317–325, 1 out. 2017.

PAZ OCARANZA, M. et al. **Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease**. **Nature Reviews Cardiology** Nature Research, , 1 fev. 2020.

PEDRO-BOTET, J.; CLIMENT, E.; BENAIGES, D. Arteriosclerosis e inflamación. Nuevos enfoques terapéuticos. **Medicina Clínica**, v. 155, n. 6, p. 256–262, set. 2020.

PETERSEN, M. C.; SHULMAN, G. I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. **Physiol Rev**, v. 98, p. 2133–2223, 2018.

PINHEIRO, T. DE A. et al. Obesity and malnutrition similarly alters the renin–angiotensin system and inflammation in mice and human adipose. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 48, p. 74–82, 1 out. 2017.

POZNYAK, A. V. et al. Renin-Angiotensin System in Pathogenesis of Atherosclerosis and Treatment of CVD. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6702, 22 jun. 2021.

PROSPECTIVE STUDIES COLLABORATION. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083–1096, mar. 2009.

PUZ, P. et al. Inflammatory markers in patients with internal carotid artery stenosis. **Archives of Medical Science**, v. 2, p. 254–260, 2013.

RAFAQAT, S. Biomarkers of Metabolic Syndrome: Role in Pathogenesis and Pathophysiology of Atrial Fibrillation. **Journal of Atrial Fibrillation**, v. 14, n. 2, 31 ago. 2021.

RAHIMI, Z.; MORADI, M.; NASRI, H. **A systematic review of the role of renin angiotensin aldosterone system genes in diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic neuropathy** *Journal of Research in Medical Sciences*. [s.l: s.n.].

RANGEL SILVARES, R. et al. High-fat diet-induced kidney alterations in rats with metabolic syndrome: endothelial dysfunction and decreased antioxidant defense. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. Volume 12, p. 1773–1781, set. 2019.

RASK-MADSEN, C. et al. Loss of Insulin Signaling in Vascular Endothelial Cells Accelerates Atherosclerosis in Apolipoprotein E Null Mice. **Cell Metabolism**, v. 11, n. 5, p. 379–389, maio 2010.

REAVEN, G. M. **Role of Insulin Resistance in Human**. [s.l: s.n.].

ROCHLANI, Y. et al. **Metabolic syndrome: Pathophysiology, management, and modulation by natural compounds**. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease* SAGE Publications Ltd, , 1 ago. 2017.

ROSS, S. M. Obesity and Metabolic Syndrome. **Holistic Nursing Practice**, v. 31, n. 5, p. 348–352, set. 2017.

SACKS, F. M.; CAMPOS, H. Low-Density Lipoprotein Size and Cardiovascular Disease: A Reappraisal. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 10, p. 4525–4532, out. 2003.

SAGIV-FRIEDGUT, K. et al. Early-onset crohn disease is associated with male sex and a polymorphism in the IL-6 promoter. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 22–26, jan. 2010.

SAKLAYEN, M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. **Current Hypertension Reports**, v. 20, n. 2, p. 12, 26 fev. 2018.

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. **The pathogenesis of insulin resistance: Integrating signaling pathways and substrate flux.** **Journal of Clinical Investigation**American Society for Clinical Investigation, , 4 jan. 2016.

SARAFIDIS, P. A.; BAKRIS, G. L. Non-esterified fatty acids and blood pressure elevation: a mechanism for hypertension in subjects with obesity/insulin resistance? **Journal of Human Hypertension**, v. 21, n. 1, p. 12–19, 19 jan. 2007.

SARAIVA, M.; VIEIRA, P.; O'GARRA, A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 1, 6 jan. 2020.
SAYED-TABATABAEI, F. A. et al. ACE Polymorphisms. **Circulation Research**, v. 98, n. 9, p. 1123–1133, 12 maio 2006.

SCHIEFFER, B. et al. Expression of Angiotensin II and Interleukin 6 in Human Coronary Atherosclerotic Plaques. **Circulation**, v. 101, n. 12, p. 1372–1378, 28 mar. 2000.

SCHULZE, F. et al. Inhibition of IL-1 β improves Glycaemia in a Mouse Model for Gestational Diabetes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

SHEN, M. et al. Shear stress and ROS-responsive biomimetic micelles for atherosclerosis via ROS consumption. **Materials Science and Engineering: C**, v. 126, p. 112164, jul. 2021.

SHERLING, D. H.; PERUMAREDDI, P.; HENNEKENS, C. H. Metabolic Syndrome. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 22, n. 4, p. 365–367, 9 jul. 2017.

SINGH, V. P. et al. High-glucose-induced regulation of intracellular ANG II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 2, p. H939–H948, ago. 2007.

SKOV, J. et al. Tissue Renin–Angiotensin Systems: A Unifying Hypothesis of Metabolic Disease. **Frontiers in Endocrinology**, v. 5, 2014.

SOUILHOL, C. et al. Endothelial responses to shear stress in atherosclerosis: a novel role for developmental genes. **Nature Reviews Cardiology**, v. 17, n. 1, p. 52–63, 31 jan. 2020.

STANCZUK, G. A. et al. Cancer of the uterine cervix may be significantly associated with a gene polymorphism coding for increased IL-10 production. **International Journal of Cancer**, v. 94, n. 6, p. 792–794, 15 dez. 2001.

STEFANADIS, C. et al. Coronary Atherosclerotic Vulnerable Plaque: Current Perspectives. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 3, mar. 2017.

STEFANUTTI, C. et al. Lipoprotein apheresis downregulates IL-1 α , IL-6 and TNF- α mRNA expression in severe dyslipidaemia. **Atherosclerosis Supplements**, v. 30, p. 200–208, 1 nov. 2017.

STIENSTRA, R. et al. The Inflammasome-Mediated Caspase-1 Activation Controls Adipocyte Differentiation and Insulin Sensitivity. **Cell Metabolism**, v. 12, n. 6, p. 593–605, dez. 2010.

STIENSTRA, R. et al. Inflammasome is a central player in the induction of obesity and insulin resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 37, p. 15324–15329, 13 set. 2011.

STOLARCZYK, E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 35–40, dez. 2017.

SUMMARY OF THE NCEP ADULT TREATMENT PANEL III REPORT. **Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults THE THIRD REPORT OF THE EX-pert Panel on Detection, Evalu-ation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III, or ATP III) constitutes the National.** [s.l: s.n.].

SUN, H. et al. IL-10-Producing ILCs: Molecular Mechanisms and Disease Relevance. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 29 mar. 2021.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in inflammation, Immunity, And disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, 1 out. 2014.

TANIGUCHI, C. M.; EMANUELLI, B.; KAHN, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 2, p. 85–96, 1 fev. 2006.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. **Physiological Reviews**, v. 86, n. 2, p. 515–581, abr. 2006.

THETHI, T.; KAMIYAMA, M.; KOBORI, H. The link between the renin-angiotensin-aldosterone system and renal injury in obesity and the metabolic syndrome. **Current Hypertension Reports**, v. 14, n. 2, p. 160–169, abr. 2012.

TURBAN, S.; HAJDUCH, E. Protein kinase C isoforms: Mediators of reactive lipid metabolites in the development of insulin resistance. **FEBS Letters**, v. 585, n. 2, p. 269–274, 21 jan. 2011.

UNAMUNO, X. et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 48, n. 9, p. e12997, set. 2018.

VALANTI, E.-K. et al. Advances in biological therapies for dyslipidemias and atherosclerosis. **Metabolism**, v. 116, p. 154461, mar. 2021.

VAN DEN BERGH, A. et al. Dyslipidaemia in type II diabetic mice does not aggravate contractile impairment but increases ventricular stiffness. **Cardiovascular Research**, v. 77, n. 2, p. 371–379, 15 jan. 2008.

VAN EXEL, E. et al. Low Production Capacity of Interleukin-10 Associates With the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 1088–1092, 1 abr. 2002.

VARGAS VARGAS, R. A.; VARELA MILLÁN, J. M.; FAJARDO BONILLA, E. Renin–angiotensin system: Basic and clinical aspects—A general perspective. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición**, out. 2021.

VASUDEVA, K.; BALYAN, R.; MUNSHI, A. **ACE-Triggered Hypertension Incites Stroke: Genetic, Molecular, and Therapeutic Aspects. NeuroMolecular Medicine** Springer, , 1 jun. 2020.

VIEIRA, E. C.; PEIXOTO, M. DO R. G.; SILVEIRA, E. A. DA. Prevalence and factors associated with Metabolic Syndrome in elderly users of the Unified Health System. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 17, n. 4, p. 805–817, dez. 2014.

VOLP, A. C. P. et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 3, p. 537–549, abr. 2008.

WANG, X. et al. Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 11, n. 2, p. a028548, fev. 2019.

WHO. **Obesity and overweight**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 27 dez. 2021a. WHO. Cardiovascular Diseases (CVDs). 2021b.

WOLF, D.; LEY, K. Immunity and Inflammation in Atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 124, n. 2, p. 315–327, 18 jan. 2019.

WU, C.-H. et al. Renin-Angiotensin System and Cardiovascular Functions.

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v. 38, n. 7, jul. 2018.

WU, K. K.; HUAN, Y. Diabetic atherosclerosis mouse models. **Atherosclerosis**, v. 191, n. 2, p. 241–249, abr. 2007.

WU, M.-Y. et al. New Insights into the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 10, p. 2034, 22 set. 2017.

XU, J. et al. Relationship Between Autophagy and Metabolic Syndrome Characteristics in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 15 abr. 2021.

YAKUBOVA, A. et al. ACE-inhibition induces a cardioprotective transcriptional response in the metabolic syndrome heart. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 16169, 1 dez. 2018.

YAMAGAMI, H. et al. Higher Levels of Interleukin-6 Are Associated With Lower Echogenicity of Carotid Artery Plaques. **Stroke**, v. 35, n. 3, p. 677–681, mar. 2004.

YAMAMOTO, N. et al. **Angiotensin–converting enzyme (Ace) 1 gene polymorphism and phenotypic expression of covid-19 symptoms**. **GenesMDPI**, , 1 out. 2021.

YANG, X.-F.; YIN, Y.; WANG, H. Vascular inflammation and atherogenesis are activated via receptors for PAMPs and suppressed by regulatory T cells. **Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies**, v. 5, n. 2, p. 125–142, jun. 2008.

YARIBEYGI, H. et al. **Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms**. **Journal of Cellular Physiology**Wiley-Liss Inc., , 1 jun. 2019.

ZHANG, R. M. et al. **Immunity and Hypertension**. **Acta Physiologica**Blackwell Publishing Ltd, , 1 jan. 2021.

ZIEGLER, L. et al. Expression of Interleukin 6 signaling receptors in carotid atherosclerosis. **Vascular Medicine**, v. 26, n. 1, p. 3–10, 22 fev. 2021.

ZILU, S. et al. Effects of XIAP on high fat diet-induced hepatic steatosis: a mechanism involving NLRP3 inflammasome and oxidative stress. **Aging**, v. 11, n. 24, p. 12177–12201, 16 dez. 2019.

ZORENA, K. et al. Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3570, 18 maio 2020.

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Universidade Federal de Pernambuco – UFPE****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Convidamos o (a) Sr. (a):_____para participar como voluntário (a) da pesquisa: “Avaliação de fatores genéticos associados à Doenças Cardiovasculares”que está sob a responsabilidade da pesquisadora Maria Eduarda Bezerra de Albuquerque Borborema, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, LIKA, setor de Biologia Molecular, Recife-PE, CEP:50670-901, telefone para contato: 2126-2501 (inclusive ligações a cobrar), email: e.a.borborema@gmail.com. Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o(a) senhor(a) não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa a quem está lhe entrevistando, para que o/a senhor/a esteja bem esclarecido(a) sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr.(a) não será penalizado(a) de forma alguma. Também garantimos que o(a) Senhor(a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade. O(a) senhor(a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores. As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (questionário e material biológico), ficarão armazenados em pastas de arquivo e em computador pessoal, sob a responsabilidade da pesquisadora Maria Eduarda Bezerra de Albuquerque Borborema, no endereço acima informado, pelo período de 5 anos e após esse prazo o material será devidamente descartado.

O(a) Sr(a). tem o direito de ser mantido(a) atualizado(a) sobre os resultados parciais da pesquisa, e caso seja solicitado, daremos todas as informações que solicitar. Nós

nos comprometemos a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos em revistas especializadas e/ou em encontros científicos e congressos, sem nunca tornar possível sua identificação. Se o (a) senhor (a) concordar em colaborar voluntariamente com a pesquisa e se não tiver nenhuma dúvida, gostaríamos que assinasse este termo. Mesmo assinando, o(a) senhor(a) poderá recusar e/ou retirar o consentimento de participar da pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para ambas as partes. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n –1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP:50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

Pesquisador: _____ Data: ____/____/____

**ANEXO B - CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO
VOLUNTÁRIO(A)**

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito do que li ou do que foi lido para mim, descrevendo o estudo: "AVALIAÇÃO DE FATORES GENÉTICOS ASSOCIADOS À DOENÇAS CARDIOVASCULARES". Ficaram claros quais são os propósitos, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos, benefícios e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso aos resultados e de esclarecer minhas dúvidas a qualquer tempo. Concordo voluntariamente em participar desta pesquisa e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Assinatura:

Voluntário: _____

Testemunhas: 1 - _____

2 - _____